



UNIVERSITE  
JEAN LOROUGNON GUEDE  
UFR AGROFORESTERIE

REPUBLIQUE DE COTE D'IVOIRE

Union -Discipline -Travail

-----

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la  
Recherche Scientifique

ANNEE : 2024-2025

N° D'ORDRE : 152

CANDIDAT :

Nom : FOFANA

Prénoms : Ousmane

Soutenue publiquement  
le 10 septembre 2025

# THESE DE DOCTORAT

Mention : Agriculture et Foresterie Tropicale

Spécialité : Ecologie Microbienne

**Profil des agents de lutttes biologiques de la  
communauté des champignons rhizosphériques  
des bananiers dans la région du Haut-Sassandra  
(Centre-Ouest, Côte d'Ivoire)**

## JURY

Présidente : Mme ADOHI KROU Viviane, Professeur Titulaire,  
Université Jean LOROUGNON GUEDE

Directeur : M. KOUASSI Kouassi Clément, Maître de Conférences,  
Université Jean LOROUGNON GUEDE

Rapporteur : M. KONE Wowo Armand, Maître de Conférences,  
Université NANGUI ABROGOUA

Rapporteur : M. SOKO Dago Faustin, Maître de Conférences, Université  
Jean LOROUGNON GUEDE

Examineur : M. COULIBALY Ibourahema, Maître de Conférences,  
Université Jean LOROUGNON GUEDE

Examinatrice : Mme GOUALIE Gblossi Bernadette, Maître de  
Conférences, Université Felix HOUPHOUET BOIGNY

**TABLE DES MATIÈRES**

**Pages**

|                                                                 |       |
|-----------------------------------------------------------------|-------|
| DÉDICACE.....                                                   | IX    |
| AVANT-PROPOS .....                                              | X     |
| REMERCIEMENTS .....                                             | XI    |
| LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS .....                          | XVI   |
| LISTE DES TABLEAUX.....                                         | XVIII |
| LISTE DES FIGURES.....                                          | XXI   |
| LISTE DES ANNEXES.....                                          | XXIII |
| INTRODUCTION.....                                               | 1     |
| PREMIÈRE PARTIE : GÉNÉRALITÉS.....                              | 6     |
| 1.1. Etude monographique du bananier.....                       | 7     |
| 1.1.1. Historique du bananier .....                             | 7     |
| 1.1.2. Description du bananier .....                            | 7     |
| 1.1.3. Taxonomie et caractéristiques génotypiques.....          | 9     |
| 1.1.4. Diversité variétale du bananier en Côte d’Ivoire.....    | 9     |
| 1.1.5. Écologie du bananier .....                               | 10    |
| 1.1.6. Culture du bananier .....                                | 11    |
| 1.1.6.1. Choix du terrain et préparation du sol.....            | 11    |
| 1.1.6.2. Semis et plantation.....                               | 11    |
| 1.1.6.3. Entretien.....                                         | 12    |
| 1.1.6.4. Récolte .....                                          | 13    |
| 1.1.7. Importance du bananier .....                             | 13    |
| 1.1.8. Valeurs nutritionnelles du bananier.....                 | 14    |
| 1.1.9. Ravageurs et maladies du bananier en Côte d’Ivoire ..... | 15    |
| 1.1.9.1. Ravageurs du bananier .....                            | 15    |
| 1.1.9.2. Maladies du bananier .....                             | 16    |
| 1.1.9.2.1. Maladies pré-récolte .....                           | 16    |

|                                                                                                                             |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1.1.9.2.2. Maladies post-récolte .....                                                                                      | 18 |
| 1.2. Rhizosphère .....                                                                                                      | 18 |
| 1.2.1. Définition .....                                                                                                     | 18 |
| 1.2.2. Microorganismes de la rhizosphère et leurs rôles .....                                                               | 19 |
| 1.2.2.1. Champignons .....                                                                                                  | 19 |
| 1.2.2.2. Bactéries.....                                                                                                     | 19 |
| 1.2.2.3. Protistes et nématodes .....                                                                                       | 20 |
| 1.2.3. Facteurs influençant la communauté microbienne rhizosphérique .....                                                  | 21 |
| 1.3. Champignons filamenteux ou moisissures .....                                                                           | 21 |
| 1.3.1. Caractéristiques morphologiques des champignons filamenteux .....                                                    | 21 |
| 1.3.2. Phases de développement et types de reproduction des champignons filamenteux.....                                    | 22 |
| 1.3.3. Phylogénie des champignons filamenteux .....                                                                         | 23 |
| 1.3.4. Mode de nutrition, facteurs nutritifs et conditions de développement des champignons filamenteux (moisissures) ..... | 25 |
| 1.3.4.1. Mode de nutrition.....                                                                                             | 25 |
| 1.3.4.1.1. Saprophytisme .....                                                                                              | 25 |
| 1.3.4.1.2. Symbiose .....                                                                                                   | 25 |
| 1.3.4.1.3. Commensalisme .....                                                                                              | 25 |
| 1.3.4.1.4. Parasitisme .....                                                                                                | 26 |
| 1.3.4.2. Facteurs nutritifs .....                                                                                           | 26 |
| 1.3.4.2.1. Source de carbone .....                                                                                          | 26 |
| 1.3.4.2.2. Source d'azote .....                                                                                             | 26 |
| 1.3.4.2.3. Source de sels minéraux et de vitamines.....                                                                     | 27 |
| 1.3.4.3. Conditions de développement.....                                                                                   | 27 |
| 1.3.4.3.1. Activité d'eau et humidité relative .....                                                                        | 27 |
| 1.3.4.3.2. Température .....                                                                                                | 27 |
| 1.3.4.3.3. Oxygène .....                                                                                                    | 28 |

|                                                                                              |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1.3.4.3.4. Potentiel Hydrogène (pH) .....                                                    | 28 |
| 1.3.5. Méthodes d'identification des champignons filamenteux.....                            | 28 |
| 1.3.5.1. Analyse macroscopique .....                                                         | 28 |
| 1.3.5.2. Analyse microscopique .....                                                         | 29 |
| 1.3.5.3. Quelques méthodes moléculaires utilisées pour l'identification des moisissures..... | 30 |
| 1.3.5.3.1. Extraction d'ADN .....                                                            | 30 |
| 1.3.5.3.2. Réaction en chaîne par la polymérase (PCR).....                                   | 30 |
| 1.3.5.3.3. Séquençage.....                                                                   | 31 |
| 1.3.5.3.4. Technique de Sanger .....                                                         | 31 |
| 1.4. Métabolites d'origine fongique .....                                                    | 32 |
| 1.4.1. Métabolites primaires .....                                                           | 32 |
| 1.4.2. Métabolites secondaires .....                                                         | 33 |
| 1.4.3. Classification des métabolites secondaires .....                                      | 33 |
| 1.4.4. Importances des métabolites secondaires fongiques.....                                | 36 |
| 1.4.5. Techniques de caractérisation des métabolites secondaires fongiques .....             | 36 |
| 1.4.5.1. Méthodes de production des métabolites secondaires .....                            | 36 |
| 1.4.5.1.1. Fermentation en milieu solide (FMS) .....                                         | 37 |
| 1.4.5.1.2. Fermentation en milieu liquide (FML).....                                         | 37 |
| 1.4.5.2. Techniques d'extraction des métabolites secondaires .....                           | 37 |
| 1.4.5.2.1. Extraction par solvant (Méthode de Solvants Organiques).....                      | 37 |
| 1.4.5.2.2. Extraction par Soxhlet.....                                                       | 38 |
| 1.4.5.2.3. Extraction par ultrasons (Ultrasound-Assisted Extraction, UAE) ....               | 39 |
| 1.4.5.2.4. Extraction par pression (Pressurized Liquid Extraction, PLE) .....                | 39 |
| 1.4.5.2.5. Extraction par fluides supercritiques (Supercritical Fluid Extraction, SFE)       | 40 |
| 1.4.5.2.6. Extraction par micro-ondes (Microwave-Assisted Extraction, MAE).....              | 41 |

|                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1.4.5.2.7. Extraction à l'eau (Hydrolyse ou Infusion).....                          | 41 |
| 1.4.5.3. Techniques de séparation des métabolites secondaires.....                  | 42 |
| 1.4.5.3.1. Chromatographie sur Colonne .....                                        | 42 |
| 1.4.5.3.2. Chromatographie sur couche mince (CCM) .....                             | 42 |
| 1.4.5.3.3. Chromatographie liquide à haute performance (HPLC) .....                 | 42 |
| 1.4.5.3.4. Chromatographie en phase gazeuse (GC) .....                              | 43 |
| 1.4.5.3.5. Fractionnement par solvant .....                                         | 43 |
| 1.4.5.3.6. Electrophorèse .....                                                     | 43 |
| 1.4.5.3.7. Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS)..... | 44 |
| 1.4.5.4. Méthodes de détermination de la structure des métabolites .....            | 44 |
| 1.5. Lutte biologique en agriculture .....                                          | 45 |
| 1.5.1. Définition .....                                                             | 45 |
| 1.5.2. Historique de la lutte biologique .....                                      | 46 |
| 1.5.3. Intérêt de la lutte biologique.....                                          | 47 |
| 1.5.4. Agents fongiques de lutte biologique.....                                    | 48 |
| 1.5.5. Mécanismes d'action d'un agent de lutte biologique.....                      | 48 |
| 1.5.5.1. Antibiose .....                                                            | 48 |
| 1.5.5.2. Compétition.....                                                           | 48 |
| 1.5.5.3. Parasitisme .....                                                          | 49 |
| 1.6. Zone d'étude.....                                                              | 49 |
| DEUXIÈME PARTIE : MATÉRIEL ET MÉTHODES .....                                        | 51 |
| 2.1. Matériel .....                                                                 | 52 |
| 2.1.1. Substrats d'étude .....                                                      | 52 |
| 2.1.2. Matériel technique.....                                                      | 52 |
| 2.1.2.1. Matériel de terrain.....                                                   | 52 |
| 2.1.2.2. Matériel technique et consommables de laboratoire.....                     | 53 |

|                                                                                               |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.1.2.3. Produits chimiques et milieux de culture .....                                       | 54 |
| 2.2. Méthodes .....                                                                           | 55 |
| 2.2.1. Prospection de la zone d'étude .....                                                   | 55 |
| 2.2.2. Réalisation de l'enquête .....                                                         | 55 |
| 2.2.3. Echantillonnage de sol rhizosphérique de bananiers.....                                | 55 |
| 2.2.4. Détermination des propriétés chimiques et physiques des sols des bananeraies           | 56 |
| 2.2.4.1. Analyse de la qualité chimique des sols .....                                        | 56 |
| 2.2.4.1.1. Détermination du pH .....                                                          | 57 |
| 2.2.4.1.2. Détermination de la teneur en matière organique .....                              | 57 |
| 2.2.4.2. Détermination de la texture des sols .....                                           | 58 |
| 2.2.5. Evaluation de la diversité fongique de la rhizosphère des bananiers .....              | 59 |
| 2.2.5.1. Isolement des champignons .....                                                      | 59 |
| 2.2.5.2. Repiquage des isolats .....                                                          | 60 |
| 2.2.5.3. Identification phénotypique des isolats de champignons.....                          | 60 |
| 2.2.5.4. Conservation des isolats purifiés.....                                               | 60 |
| 2.2.5.5. Charge fongique des sols rhizosphériques .....                                       | 61 |
| 2.2.5.6. Diversité des genres fongiques des bananeraies .....                                 | 61 |
| 2.2.5.7. Fréquence d'isolement des champignons .....                                          | 61 |
| 2.2.6. Identification moléculaire des potentiels antagonistes et pathogènes du bananier... .. | 62 |
| 2.2.6.1. Extraction d'ADN génomique .....                                                     | 62 |
| 2.2.6.2. Amplifications des régions spécifiques des gènes par PCR .....                       | 62 |
| 2.2.6.3. Electrophorèse des gènes amplifiés .....                                             | 63 |
| 2.2.6.4. Séquençage des gènes et analyses des séquences .....                                 | 63 |
| 2.2.7. Recherche de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> , pathogène foliaire du plantain .....    | 64 |
| 2.2.7.1. Echantillonnage des feuilles.....                                                    | 64 |
| 2.2.7.2. Recherche de souches de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> .....                        | 64 |

|                                                                                                                                                     |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.2.7.3. Identification des isolats de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> .....                                                                        | 65 |
| 2.2.8. Recherche de champignons antagonistes des pathogènes du bananier .....                                                                       | 65 |
| 2.2.8.1. Recherche de champignons antagonistes de <i>Fusarium falciforme</i> ,<br><i>Aspergillus fumigatus</i> et <i>Aspergillus spinosus</i> ..... | 65 |
| 2.2.8.2. Recherche de champignons antagonistes du pathogène spécifique<br><i>Mycosphaerella fijiensis</i> .....                                     | 66 |
| 2.2.9. Mise en évidence de composés biologiquement actifs des champignons<br>antagonistes .....                                                     | 67 |
| 2.2.9.1. Recherche des composés actifs (métabolites secondaires) des champignons<br>antagonistes.....                                               | 67 |
| 2.2.9.2. Détermination de la structure des métabolites .....                                                                                        | 67 |
| 2.2.10. Recherche de composés actifs contre <i>Fusarium falciforme</i> et <i>Mycosphaerella<br/>fijiensis</i> .....                                 | 68 |
| 2.2.10.1. Production des métabolites secondaires des champignons<br>antagonistes.....                                                               | 68 |
| 2.2.10.2. Evaluation de l'activité biologique des métabolites des champignons<br>antagonistes sur des pathogènes fongiques du plantain .....        | 69 |
| 2.2.11. Analyses statistiques .....                                                                                                                 | 70 |
| TROISIÈME PARTIE : RÉSULTATS ET DISCUSSION .....                                                                                                    | 71 |
| 3.1. Résultats .....                                                                                                                                | 72 |
| 3.1.1. Typologie des bananeraies de la zone agroécologique du Haut-Sassandra (Centre-<br>Ouest, Côte d'Ivoire) .....                                | 72 |
| 3.1.1.1. Répartition des bananeraies de plus d'un hectare de la région du Haut-<br>Sassandra .....                                                  | 72 |
| 3.1.1.2. Chefs d'exploitation du plantain dans la région du Haut-Sassandra.....                                                                     | 72 |
| 3.1.1.3. Pratiques culturelles observées dans les bananeraies .....                                                                                 | 73 |
| 3.1.1.4. Impact des systèmes culturaux sur la production du plantain .....                                                                          | 76 |
| 3.1.1.5. Contraintes liées à la culture du plantain dans la région du Haut-<br>Sassandra.....                                                       | 76 |

|                                                                                                                              |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 3.1.1.6. Pratiques agroécologiques observées dans les bananeraies .....                                                      | 77  |
| 3.1.1.7. Propriétés chimiques et physiques des sols rhizosphériques des bananiers                                            | 78  |
| 3.1.1.8. Variation des teneurs des propriétés physico-chimiques des sols selon le système de culture et le département ..... | 80  |
| 3.1.2. Champignons présents dans le sol rhizosphérique des bananeraies dans la région du Haut-Sassandra .....                | 83  |
| 3.1.2.1. Caractéristiques morphologiques des moisissures isolées de la rhizosphère des bananiers.....                        | 83  |
| 3.1.2.2. Densités fongiques des sols des bananeraies.....                                                                    | 90  |
| 3.1.2.2.1. Charges fongiques des sols en fonction des départements.....                                                      | 90  |
| 3.1.2.2.2. Charges fongiques des sols en fonction des systèmes cultureux .....                                               | 90  |
| 3.1.2.3. Diversité en genres fongiques des bananeraies .....                                                                 | 91  |
| 3.1.2.3.1. Richesse spécifique de la rhizosphère des bananiers en fonction des départements.....                             | 91  |
| 3.1.2.3.2. Richesse spécifique de la rhizosphère des bananiers en fonction des systèmes cultureux .....                      | 92  |
| 3.1.2.3.3. Abondance relative des genres des départements .....                                                              | 95  |
| 3.1.2.3.4. Indices de diversité écologique en fonction des départements.....                                                 | 98  |
| 3.1.2.4. Variation de l'abondance relative des champignons.....                                                              | 98  |
| 3.1.2.4.1. Variation de l'abondance relative des champignons en fonction des propriétés physico-chimiques des sols .....     | 98  |
| 3.1.2.4.2. Variation de l'abondance relative des champignons en fonction des systèmes cultureux .....                        | 99  |
| 3.1.2.5. Interaction entre champignons rhizosphériques .....                                                                 | 100 |
| 3.1.3. Champignons antagonistes des pathogènes du plantain.....                                                              | 102 |
| 3.1.3.1. Agents de biocontrôle et champignons pathogènes du bananier.....                                                    | 102 |
| 3.1.3.1.1. Champignons rhizosphériques potentiels agents de biocontrôle ou pathogènes du bananier .....                      | 102 |

|                                                                                                                                                                      |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 3.1.3.1.2. Caractéristiques de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> , agent causal de la cercosporiose noire du bananier .....                                            | 105 |
| 3.1.3.2. Activité inhibitrice des souches antagonistes sur les souches pathogènes                                                                                    | 108 |
| 3.1.3.2.1. Evolution de la croissance de <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Aspergillus spinosus</i> et <i>Fusarium falciforme</i> en présence des antagonistes ..... | 108 |
| 3.1.3.2.2. Evolution de la croissance de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> en présence des antagonistes .....                                                          | 113 |
| 3.1.3.2.3. Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne des souches pathogènes par les antagonistes.....                                                     | 115 |
| 3.1.3.3. Profils métaboliques de quelques souches antagonistes .....                                                                                                 | 117 |
| 3.1.3.4. Activité inhibitrice des métabolites totaux des souches antagonistes sur les pathogènes .....                                                               | 123 |
| 3.1.3.4.1. Quantité des métabolites totaux extraits des souches antagonistes....                                                                                     | 123 |
| 3.1.3.4.2. Activité antifongique des métabolites des souches antagonistes sur les pathogènes <i>Mycosphaerella fijiensis</i> et <i>Fusarium falciforme</i> .....     | 123 |
| 3.1.3.5. Synthèse des actions antagonistes .....                                                                                                                     | 127 |
| 3.2. Discussion .....                                                                                                                                                | 128 |
| 3.2.1. Typologie des bananeraies de la zone agroécologique du Haut-Sassandra .....                                                                                   | 128 |
| 3.2.2. Champignons rhizosphériques des bananeraies dans la Région du Haut-Sassandra. ....                                                                            | 131 |
| 3.2.3. Champignons antagonistes des pathogènes du plantain.....                                                                                                      | 135 |
| CONCLUSION, PERSPECTIVES ET RECOMMANDATIONS .....                                                                                                                    | 140 |
| CONCLUSION .....                                                                                                                                                     | 141 |
| PERSPECTIVES ET RECOMMANDATIONS.....                                                                                                                                 | 142 |
| RÉFÉRENCES.....                                                                                                                                                      | 143 |
| ANNEXES .....                                                                                                                                                        | 169 |
| PUBLICATIONS .....                                                                                                                                                   | 176 |

## DÉDICACE

Je dédie ce travail à :

- la mémoire de mon père feu MECHUE Fofana

*Papa, tu t'es battu pour que je sache lire et écrire ; ton rêve est aujourd'hui plus qu'une réalité. Sois fier de ton fils là où tu es et merci de m'avoir légué ton courage face aux dures épreuves de la vie.*

-ma très chère mère SANGARE Fanta

*Affable, honorable, aimable, tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement. Tu n'as pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.*

## **AVANT-PROPOS**

Cette étude s'inscrit dans le cadre des recherches actuellement menées en vue de réduire l'usage des pesticides chimiques et de promouvoir les moyens de lutte biologique en agriculture. Les travaux de recherche ont porté sur la caractérisation phénotypique et moléculaire des champignons associés à la rhizosphère du bananier et la sélection d'agents de biocontrôle des pathogènes du bananier. Ils ont impliqué la collaboration entre plusieurs institutions universitaires et de recherche en Côte d'Ivoire et en France.

Les analyses microbiologiques des échantillons de sol, les analyses moléculaires (extraction d'ADN, amplification, électrophorèse) et les tests de confrontation entre microorganismes ont été réalisés au Laboratoire de l'Agrovalorisation de l'UFR Agroforesterie de l'Université Jean LOROUGNON GUEDE (UJLoG) de Côte d'Ivoire. Le séquençage des gènes a été effectué au Laboratoire de Chimie de l'UMR 7245 MNHN/CNRS à Paris (France). Les analyses des propriétés physico-chimiques des sols rhizosphériques ont été effectuées au Laboratoire de Pédologie de l'UFR Agronomie de l'Institut National Polytechnique Felix Houphouët-Boigny (INPHB) de Côte d'Ivoire. Les analyses des composés actifs des champignons antagonistes ont été réalisées au Laboratoire de Bactériologie et Virologie de l'UFR des Sciences Médicales de l'Université Félix-Houphouët Boigny de Côte d'Ivoire. Quant à la détermination des structures des composés actifs issus des métabolites secondaires, elle a été réalisée sur la Plateforme de Chimie de l'UMR 7245 MNHN/CNRS à Paris en France.

## **REMERCIEMENTS**

Le présent travail a été réalisé au sein de l'Université Jean LOUROUGNON GUEDE (UJLoG). C'est avec un grand plaisir que nous réservons ces lignes en signe de gratitude et de reconnaissances à ceux qui ont contribué à sa réalisation.

J'adresse d'abord ma gratitude à la présidence de l'Université Jean LOUROUGNON GUEDE.

- A Madame la Présidente de l'Université Jean LOUROUGNON GUEDE, Professeure ADOHI KROU Viviane, Professeure Titulaire de Physique Atomistique et Nucléaire, je vous remercie chaleureusement pour votre dévouement et votre implication dans la formation des apprenants ainsi que la promotion de l'excellence dans notre institution. C'est un immense honneur que vous me faites Madame la présidente en acceptant de présider le jury de cette thèse malgré votre agenda très chargé. Je vous exprime mon admiration et mon profond respect Madame la présidente.

- A Monsieur le Vice-Président en charge de la Pédagogie et de la Vie Universitaire de l'Université Jean LOUROUGNON GUEDE, Professeur SORO Dogniméton, Professeur Titulaire d'Agro-Pédologie, je vous exprime toute ma gratitude pour tous les efforts menés quotidiennement en vue de la bonne marche de notre Université.

- A Monsieur le Vice-Président de l'Université Jean LOUROUGNON GUEDE en charge de la Recherche, de l'Innovation et des Relations Extérieures, Professeur KONE Issiaka, Professeur Titulaire de Socio-Anthropologie, je vous dis merci pour votre engagement dans les activités de recherche et la réussite des étudiants.

J'adresse ensuite mes sincères remerciements à mes Maîtres et Responsables de l'UFR Agroforesterie.

- A Monsieur le Directeur de l'Unité de Formation et de Recherche (UFR) Agroforesterie de l'Université Jean LOUROUGNON GUEDE, Docteur KOUASSI Kouassi Clément, Maître de Conférences en Microbiologie et Sécurité Alimentaire, également Directeur Scientifique de cette thèse de Doctorat, je vous remercie cher maître pour vos enseignements, votre disponibilité et vos conseils. Vos orientations scientifiques ainsi que l'accompagnement dont j'ai bénéficié ont aidé à l'achèvement de cette thèse.

- A Monsieur le Directeur du Laboratoire Amélioration de la Production Agricole (APA), Professeur AYOLIE Koutoua, Professeur Titulaire d'Agro-Physiologie, je vous adresse mes remerciements pour votre disponibilité et votre dévouement pour l'accompagnement des doctorants inscrits dans votre Laboratoire.

- A Monsieur le Directeur du Laboratoire Agrovalorisation, Professeur BEUGRE Grah Avit Maxwell, Professeur Titulaire de Biochimie et Nutrition, je vous remercie pour votre disponibilité pour les doctorants.

En outre j'exprime ma gratitude aux membres du jury.

- A Monsieur SOKO Dago Faustin, Maître de Conférences en Physiologie Végétale à l'Université Jean LOROUGNON GUEDE, Rapporteur de cette thèse, je suis honoré par votre présence et reconnaissant pour vos contributions scientifiques, vos observations pertinentes qui ont aidé à la qualité de cette thèse.

- A Monsieur KONE Wowo Armand, Maître de Conférences en Agroécologie à l'Université NANGUI ABROUGOUA, Rapporteur de cette thèse, vous avez pris de votre temps pour améliorer le contenu du document ; je suis honoré par votre présence, reconnaissant pour vos observations pertinentes et vos contributions scientifiques.

- A Monsieur COULIBALY Ibourahema, Maître de Conférences en Biochimie-Microbiologie à l'Université Jean LOROUGNON GUEDE, Examineur de cette thèse, je suis reconnaissant pour vos observations pertinentes et pour vos contributions scientifiques pour la qualité finale du document.

- A Madame GOUALIE Gblossi Bernadette, Maître de Conférences en Biochimie et Microbiologie à l'Université Félix HOUPHOUËT BOIGNY, Examinatrice de cette thèse, je suis reconnaissant pour vos contributions scientifiques et pour vos observations pertinentes pour la qualité finale du document.

De plus mes remerciements s'adressent aux personnes ressources qui ont aidé dans les manipulations.

- A Monsieur ANGAMAN Djédoux Maxime, Professeur Titulaire de Biochimie et Biologie Moléculaire à l'Université Jean LOROUGNON GUEDE, je vous remercie de m'avoir permis d'intégrer votre Laboratoire pour les analyses moléculaires.

- A Monsieur KOFFI Mathurin, Professeur Titulaire de Génétique à l'Université Jean LOROUGNON GUEDE, je vous dis merci pour m'avoir accueilli dans votre Laboratoire, où j'ai pu également réaliser des analyses moléculaires.

- A Monsieur PAKORA Gilles Alex, Maître de Conférences en Chimie des Substances Naturelles à l'Université Félix HOUPHOUËT BOIGNY, je vous exprime ma profonde gratitude. Merci de m'avoir facilité l'accès au Laboratoire de Virologie et Bactériologie, pour la réalisation de mes analyses métaboliques.

- A Monsieur VOKO-BI Rosin Don Rodrigue, Maître de Conférences en Microbiologie des Sols à l'Université Jean LOROUGNON GUEDE, je vous remercie chaleureusement pour votre disponibilité. En effet, ce travail est achevé grâce à votre confiance placée en moi, votre patience et votre générosité. Vos nombreux conseils scientifiques et rédactionnels ont facilité ma tâche.

- A Monsieur KRA Athanase, Maître de Conférences en Microbiologie et Sécurité Alimentaire à l'Université Jean LOROUGNON GUEDE, je vous exprime toute ma gratitude pour votre disponibilité. Vous avez toujours mis à notre disposition, le matériel nécessaire pour réaliser nos manipulations ;

- A Monsieur OUINA Toualy Serge Thibaut, Maître-Assistant en Microbiologie et Biologie Moléculaire à l'Université Jean LOROUGNON GUEDE, je vous remercie pour votre disponibilité ; vous avez porté toujours un regard critique sur ce travail chaque fois que cela était nécessaire.

- A Monsieur BAMBA Souleymane, Maître-Assistant en Chimie des Substances Naturelles à l'Université Jean LOROUGNON GUEDE, UFR Environnement, je vous remercie pour votre aide et vos conseils apportés lors des analyses métaboliques. Votre soutien a été inestimable et je me sens chanceux d'avoir bénéficié de vos conseils.

- A Monsieur KONE Aboudramane, Maître-Assistant en Chimie Organique à l'Université Jean LOROUGNON GUEDE, UFR Environnement, je suis reconnaissant pour votre aide et vos conseils apportés lors des analyses métaboliques. Votre expertise et votre disponibilité ont été d'une grande aide dans la compréhension des résultats et l'interprétation des données.

- A Monsieur KOUAME Yao Anicet Gervais, Attaché de Recherche en Ecologie Végétale à l'Université Jean LOROUGNON GUEDE, UFR Agroforesterie, je vous exprime toute ma gratitude pour votre aide précieuse lors des analyses statistiques des données.

- A Monsieur ABE Allépo Innocent, Assistant en Génétique à l'Université Jean LOROUGNON GUEDE, UFR Agroforesterie, je vous dis un grand merci pour votre soutien indispensable lors des analyses moléculaires.

- A Madame Yao Flora, Assistante en Génétique et Epidémiologie Moléculaire à l'Université Jean LOROUGNON GUEDE, UFR Agroforesterie, je vous exprime toute ma gratitude pour votre soutien qui a été très utile lors des analyses moléculaires ; je vous en remercie.

- A l'ensemble des Enseignants-chercheurs de l'UFR Agroforesterie, je vous exprime ma reconnaissance pour le savoir que vous m'avez apporté durant mon cursus universitaire.

- A Monsieur N'Zi Parfait, Docteur en Microbiologie et Biologie Moléculaire, je vous exprime toute mon admiration. Merci pour votre disponibilité, votre savoir-faire et vos conseils. Votre aide a été très précieuse pour moi durant les analyses moléculaires.

- A Madame COULIBALY Edwige, Docteure en Biologie Moléculaire et Fonctionnelle, je vous témoigne toute ma reconnaissance pour votre aide précieuse et incontournable lors des analyses sur les métabolites fongiques.

- A Monsieur FOBA Stéphane, Docteur en Microbiologie et Biologie Moléculaire, je vous dis merci pour l'aide précieuse que vous m'avez apportée au cours de mes travaux d'enquête. Votre disponibilité et votre soutien constant ont véritablement enrichi mon expérience. Je vous suis profondément reconnaissant pour votre engagement et votre dévouement.

Enfin, je tiens à exprimer ma profonde gratitude à mes parents et amis.

- A mon grand-père, SIDIBE Oumar, je te remercie pour ta bienveillance et ton soutien indéfectible qui ont toujours été des sources d'inspiration pour moi. Merci pour les valeurs que tu m'as transmises et pour tous les moments précieux que nous avons partagés. Ton amour et ton encouragement m'accompagnent chaque jour.

- A ma tante KANE Monkrou, je te remercie pour ton amour inébranlable et ton soutien constant. Ta présence a été une véritable source de force et d'inspiration dans ma vie. Merci d'être toujours là pour moi.

- A mon ami LY Moctar et à son épouse Aïcha, je vous exprime ma profonde admiration pour votre soutien financier et moral, qui m'ont été d'un confort inestimable. Votre générosité et votre bienveillance m'ont permis de surmonter de nombreux obstacles. Vous m'avez accueilli comme un membre de votre propre famille, me prodiguant un soutien inconditionnel tout au long de mon parcours. Votre présence à mes côtés a été un véritable moteur de motivation et de sérénité.

- A Mademoiselle CISSE Siré et Monsieur DIARRA Akib, je vous dis merci pour votre rôle essentiel dans la facilitation du contact avec les producteurs du plantain de la région du Haut-Sassandra. Votre aide a été précieuse et a grandement contribué à la réussite de la mission exploratoire et de l'enquête. Grâce à votre intervention, j'ai pu établir des liens importants et obtenir des informations pertinentes.

- A mes frères Ginola, Fadel, Ben, Ibrahim, Souleymane, Sidi, Sambo et ma sœur Makoko, je vous exprime ma reconnaissance pour votre soutien indéfectible et votre affection. Vous été une source constante de réconfort et de motivation pour moi. Votre présence, votre encouragement et votre compréhension m'ont permis de surmonter les moments difficiles et de poursuivre mes objectifs avec détermination. Votre amour et votre solidarité ont joué un rôle essentiel tout au long de ce parcours.

- A ma camarade Karidja FOFANA, je te dis un grand merci pour ton soutien financier et moral précieux. Ta générosité et ta bienveillance ont été des atouts indispensables tout au long de mon parcours ;

- A l'ensemble des Doctorants du Laboratoire de l'Unité de Recherche et d'Enseignement en Microbiologie (UREM) de l'UJLoG, notamment EHUI Edi Jean Fréjus, KOUAME Aya Christelle, GBOAZO Ybo Marc, GLOKPAI Noëllie, KACOU Okran Beyosse Christophe et DIARRA Alima, avec qui je garde un excellent souvenir de notre parfaite collaboration et des échanges fructueux durant ces moments vécus ; je vous exprime ma profonde reconnaissance.

- A toutes mes connaissances et tous ceux qui, de près ou de loin, ont eu à me soutenir d'une manière ou d'une autre, je vous remercie chaleureusement.

**LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS**

**ACP** : Analyse en Composantes Principales

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique

**AFC** : Analyse en Composantes Factorielles

**Aw** : Activité de l'Eau

**BBTV** : Banana Bunchy Top Virus

**BSV** : Banana Streak Virus

**BXW** : Banana Xanthomonas Wilt

**CCM** : Chromatographie sur Couche Mince

**CI50** : Concentration qui induit 50 % d'Inhibition

**CMF** : Concentration Minimale Fongicide

**CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice

**CTAB** : Cétyltriméthylammonium Bromure

**DMSO** : Diméthylsulfoxyde

**E** : Indice d'équitabilité de Piélou

**FML** : Fermentation en Milieu Liquide

**FMS** : Fermentation en Milieu Solide

**FOC** : *Fusarium Oxysporum* Cubense

**GC** : Chromatographie en phase Gazeuse

**GLM** : Modèle Linéaire Généralisé

**H'** : Indice de diversité de Shannon

**HPLC** : Chromatographie Liquide à Haute Performance

**HR** : Humidité Relative

**IRA** : Institut de la Recherche Agronomique

**ITS** : Internal Transcribed Spacers

**LC-MS** : Chromatographie Liquide couplée à la Spectrométrie de Masse

**MO (%)** : Taux de Matière Organique

**MRN** : Maladie des Raies Noires

**MS** : Maladie de Sigatoka

**PCR** : Réaction en Chaîne par Polymérase

**PIF** : Plants Issus de Fragments

**RDA** : Analyse de Redondance

**RMN** : Résonance Magnétique Nucléaire

**UI** : Unité Internationale

**LISTE DES TABLEAUX**

**Pages**

|                                                                                                                                                        |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tableau I</b> : Valeurs nutritionnelles de la banane et du plantain pour 100 g de portion comestible crue .....                                     | 15 |
| <b>Tableau II</b> : Quelques composés phénoliques .....                                                                                                | 34 |
| <b>Tableau III</b> : Normes d'interprétation de la matière organique .....                                                                             | 58 |
| <b>Tableau IV</b> : Normes d'interprétation du rapport C/N.....                                                                                        | 58 |
| <b>Tableau V</b> : Mix réactionnel de la PCR .....                                                                                                     | 63 |
| <b>Tableau VI</b> : Différents programmes de PCR.....                                                                                                  | 63 |
| <b>Tableau VII</b> : Nombre de bananeraies de plus d'un hectare de la Région du Haut-Sassandra .....                                                   | 72 |
| <b>Tableau VIII</b> : Profil des chefs d'exploitation des bananeraies.....                                                                             | 73 |
| <b>Tableau IX</b> : Quelques caractéristiques des bananeraies investiguées .....                                                                       | 75 |
| <b>Tableau X</b> : Comparaison entre monoculture et association culturale du plantain dans le Haut-Sassandra.....                                      | 76 |
| <b>Tableau XI</b> : Quelques contraintes liées à la culture bananière de la Région du Haut-Sassandra .....                                             | 77 |
| <b>Tableau XII</b> : Pratiques agroforestières et écologiques observées dans les bananeraies.....                                                      | 77 |
| <b>Tableau XIII</b> : Caractéristiques chimiques des sols rhizosphériques des bananiers de la région du Haut-Sassandra.....                            | 79 |
| <b>Tableau XIV</b> : Caractéristiques physiques des sols rhizosphériques des bananiers de la région du Haut-Sassandra.....                             | 79 |
| <b>Tableau XV</b> : Analyse de variance des propriétés physico-chimiques des sols selon le système de culture et le département.....                   | 81 |
| <b>Tableau XVI</b> : Paramètres physico-chimiques selon le système de culture et le département.. ..                                                   | 82 |
| <b>Tableau XVII</b> : Caractéristiques macroscopiques et microscopiques des champignons isolés de la rhizosphère des bananiers du Haut-Sassandra ..... | 84 |
| <b>Tableau XVIII</b> : Aspects macroscopique et microscopique des champignons avec un mycélium aérien et envahissant.....                              | 87 |
| <b>Tableau XIX</b> : Aspects macroscopique et microscopique des champignons avec un mycélium bas et envahissant .....                                  | 88 |
| <b>Tableau XX</b> : Aspects macroscopique et microscopique des champignons avec un mycélium bas et non envahissant .....                               | 89 |

|                                                                                                                                                                                                                            |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Tableau XXI</b> : Charges fongiques de la rhizosphère des bananiers de la Région du Haut-Sassandra en fonction des systèmes cultureux .....                                                                             | 91  |
| <b>Tableau XXII</b> : Richesse spécifique des départements en genre fongique.....                                                                                                                                          | 92  |
| <b>Tableau XXIII</b> : Richesse spécifique des champignons de la rhizosphère des bananiers en fonction des systèmes cultureux.....                                                                                         | 94  |
| <b>Tableau XXIV</b> : Indices de diversité en genre de micromycètes de la rhizosphère des bananiers .....                                                                                                                  | 98  |
| <b>Tableau XXV</b> : Espèces fongiques issues du Blast de séquences ITS des champignons rhizosphériques.....                                                                                                               | 104 |
| <b>Tableau XXVI</b> : Caractéristiques phénotypiques des champignons isolés des surfaces foliaires des bananiers .....                                                                                                     | 106 |
| <b>Tableau XXVII</b> : Photographies de la confrontation directe entre les pathogènes ( <i>Fusarium falciforme</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> et <i>Aspergillus spinosus</i> ) avec des espèces antagonistes. ....     | 111 |
| <b>Tableau XXVIII</b> : Evolution de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> (M10) en fonction du temps en présence de cinq (05) antagonistes.....                                                                                 | 113 |
| <b>Tableau XXIX</b> : Photographies de la confrontation directe entre <i>Mycosphaerella fijiensis</i> (M10) et les souches antagonistes .....                                                                              | 114 |
| <b>Tableau XXX</b> : Métabolites isolés de la souche de <i>Hamigera terricola</i> (A11E) .....                                                                                                                             | 118 |
| <b>Tableau XXXI</b> : Métabolites isolés de la souche de <i>Trichoderma longibrachiatum</i> (A30). .....                                                                                                                   | 119 |
| <b>Tableau XXXII</b> : Métabolites isolés de la souche de <i>Trichoderma ghanense</i> (A12E) .....                                                                                                                         | 120 |
| <b>Tableau XXXIII</b> : Métabolites isolés de la souche de <i>Trichoderma reesei</i> (A21).....                                                                                                                            | 121 |
| <b>Tableau XXXIV</b> : Métabolites isolés de la souche de <i>Neurospora dictyophora</i> (A20) .....                                                                                                                        | 122 |
| <b>Tableau XXXV</b> : Masse des extraits fongiques par souche antagonistes .....                                                                                                                                           | 123 |
| <b>Tableau XXXVI</b> : Analyse de variance du pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> en fonction de l'extrait métabolite, de la concentration et de leur interaction..... | 124 |
| <b>Tableau XXXVII</b> : Analyse de variance du pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne de <i>Fusarium falciforme</i> en fonction de l'extrait métabolite, de la concentration et de leur interaction.....     | 124 |
| <b>Tableau XXXVIII</b> : Variation des CI50 (Concentration qui induit 50 % d'Inhibition), CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) et CMF (Concentration Minimale Fongicide) en fonction des extraits.....                 | 126 |

|                                                                                                                                                                                                     |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Tableau XXXIX</b> : Activité inhibitrice des champignons antagonistes en confrontation directe avec les pathogènes et effet inhibiteur de leurs métabolites secondaires sur ces pathogènes ..... | 127 |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|

| LISTE DES FIGURES                                                                                                                                                          | Pages |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| <b>Figure 1</b> : Anatomie du bananier .....                                                                                                                               | 8     |
| <b>Figure 2</b> : Présentation d'un germoir .....                                                                                                                          | 12    |
| <b>Figure 3</b> : Structure de l'hyphe (a : hyphe coenocytique ; b : hyphe cloisonné) .....                                                                                | 22    |
| <b>Figure 4</b> : Arbre phylogénétique des champignons filamenteux .....                                                                                                   | 24    |
| <b>Figure 5</b> : Organes de fructifications du genre <i>Aspergillus</i> (a) et du genre <i>Rhizopus</i> (b) .....                                                         | 30    |
| <b>Figure 6</b> : Principe du séquençage selon la méthode de Sanger .....                                                                                                  | 32    |
| <b>Figure 7</b> : Molécule d'isoprène .....                                                                                                                                | 34    |
| <b>Figure 8</b> : Molécule de salicyline (exemple des hétérosides) .....                                                                                                   | 35    |
| <b>Figure 9</b> : Structure de quelques alcaloïdes .....                                                                                                                   | 36    |
| <b>Figure 10</b> : Dispositif d'extraction par Soxhlet .....                                                                                                               | 38    |
| <b>Figure 11</b> : Dispositif d'extraction par ultrasons .....                                                                                                             | 39    |
| <b>Figure 12</b> : Dispositif d'extraction par pression .....                                                                                                              | 40    |
| <b>Figure 13</b> : Dispositif d'extraction au CO <sub>2</sub> supercritique .....                                                                                          | 40    |
| <b>Figure 14</b> : Dispositif d'extraction par micro-ondes .....                                                                                                           | 41    |
| <b>Figure 15</b> : Cartographie de la zone d'étude (Centre-Ouest (a) et Sud-Est (b), Côte d'Ivoire)<br>.....                                                               | 50    |
| <b>Figure 16</b> : Substrats d'étude .....                                                                                                                                 | 52    |
| <b>Figure 17</b> : Représentation schématique des placettes dans une bananeraie .....                                                                                      | 56    |
| <b>Figure 18</b> : Triangle des textures .....                                                                                                                             | 59    |
| <b>Figure 19</b> : Représentation schématique de la technique de la confrontation directe .....                                                                            | 66    |
| <b>Figure 20</b> : Répartition des systèmes culturaux du plantain dans le Haut-Sassandra .....                                                                             | 74    |
| <b>Figure 21</b> : Système d'association culturale entre bananier et soja .....                                                                                            | 78    |
| <b>Figure 22</b> : Charges fongiques des différents départements du Haut-Sassandra .....                                                                                   | 90    |
| <b>Figure 23</b> : Fréquence d'isolement des champignons dans le département de Daloa .....                                                                                | 96    |
| <b>Figure 24</b> : Fréquence d'isolement des champignons dans le département de Vavoua .....                                                                               | 96    |
| <b>Figure 25</b> : Fréquence d'isolement des champignons dans le département de Issia .....                                                                                | 97    |
| <b>Figure 26</b> : Fréquence d'isolement des champignons dans le département de Zoukougbeu ..                                                                              | 97    |
| <b>Figure 27</b> : Analyse de redondance (RDA) montrant les relations entre les propriétés physico-chimiques des sols et l'abondance des champignons rhizosphériques ..... | 99    |
| <b>Figure 28</b> : Analyse AFC montrant les relations entre les systèmes culturaux et l'abondance des champignons rhizosphériques .....                                    | 100   |

|                                                                                                                                                                                               |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Figure 29</b> : Plan factoriel et dendrogramme indiquant les interactions entre les champignons rhizosphériques.....                                                                       | 101 |
| <b>Figure 30</b> : Arbre phylogénétique des champignons de la rhizosphère des bananiers.....                                                                                                  | 105 |
| <b>Figure 31</b> : Profil électrophorétique du produit de l'amplification des isolats fongiques.....                                                                                          | 107 |
| <b>Figure 32</b> : Aspects macroscopique et microscopiques de la souche M10 ( <i>Mycosphaerella fijiensis</i> ) .....                                                                         | 107 |
| <b>Figure 33</b> : Evolution du diamètre de croissance de <i>Aspergillus fumigatus</i> en présence des antagonistes en fonction du temps .....                                                | 109 |
| <b>Figure 34</b> : Evolution du diamètre de croissance de <i>Aspergillus spinosus</i> en présence des antagonistes en fonction du temps .....                                                 | 109 |
| <b>Figure 35</b> : Evolution du diamètre de croissance de <i>Fusarium falciforme</i> en présence des antagonistes en fonction du temps .....                                                  | 110 |
| <b>Figure 36</b> : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne des pathogènes par les antagonistes au 7 <sup>ème</sup> jour .....                                                    | 116 |
| <b>Figure 37</b> : Pourcentage d'inhibition de la croissance de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> et de <i>Fusarium falciforme</i> en fonction de la concentration des extraits fongiques ..... | 126 |

**LISTE DES ANNEXES**

Annexe I : Fiche d'enquête

Annexe II : Matériel technique

Annexe III : Chromatogrammes du profil métabolique des champignons antagonistes

# INTRODUCTION

Le bananier (*Musa* spp.) occupe une place importante parmi les cultures de subsistance en Côte d'Ivoire, en raison de son intérêt sur le plan économique et nutritionnel (Teycheney *et al.*, 2007). Il y est cultivé essentiellement pour la consommation de ses fruits (bananes et plantains) qui constituent des aliments de base pour les populations ivoiriennes (Bakry *et al.*, 2005 ; Lassoudière, 2010). Le plantain est la 3<sup>ème</sup> culture vivrière après l'igname et le manioc (FAO, 2023). Sa consommation annuelle varie entre 80 et 120 kg par personne (Thiémélé *et al.*, 2017). La filière banane constitue une source de revenu pour les agriculteurs. Cette filière fournit annuellement 340 milles et 2,3 millions de tonnes de bananes dessert et de plantains respectivement. Elle contribue entre 5 et 8 % du PIB agricole du pays et fournit environ 22000 emplois (FIRCA, 2017 ; CIRAD, 2023 ; FAO, 2023).

La Région du Haut-Sassandra située au Centre-Ouest de la Côte d'Ivoire en zone tropicale humide occupe une place de choix dans la production de cette spéculatation. En effet, elle fournit 37 % de la production ivoirienne destinée à l'approvisionnement en bananes des marchés nationaux et internationaux (FAO, 2023). A l'instar des autres zones de production, l'exploitation dans le Haut-Sassandra de cette culture d'intérêt est cependant entravée par divers stress dus à des agents abiotiques et/ou biotiques. Les facteurs abiotiques entraînant les pertes de production au niveau de la culture du plantain sont généralement le faible niveau de fertilité des sols et le déficit hydrique provoqués par la baisse de la pluviométrie (Caquet, 2014 ; Kouakou *et al.*, 2016). En Afrique tropicale et précisément en Côte d'Ivoire, la baisse de la pluviométrie est à l'origine des sécheresses inhabituelles, matérialisée par des températures élevées. Ce déficit d'eau est provoqué par une modification du régime des précipitations et par une diminution des hauteurs annuelles de pluie (Affoué *et al.*, 2019 ; Brou *et al.*, 2003). Ces anomalies pluviométriques ont un impact négatif sur la production du plantain qui est sensible aux faibles niveaux d'eau (Chanzy *et al.*, 2015). Ces conditions sont exacerbées par la perte de fertilité des sols. Les facteurs biotiques à l'origine de la perte de production du plantain comprennent les maladies fongiques, bactériennes, virales et les ravageurs (Kouakou *et al.*, 2016).

La communauté fongique associée à la rhizosphère du bananier joue un rôle important pour l'adaptation de cette plante aux conditions écologiques et sa capacité de production (Jaegers, 2024). En effet, cette communauté héberge une grande diversité d'espèces microscopiques qui interagissent entre elles d'une part et d'autre part avec les racines des plantes (Ridout & Newcombe, 2016 ; Van-Der-Heijden & Hartmann, 2016). Ainsi, dans la rhizosphère du bananier à l'exception des champignons mycorhiziens, la plupart des espèces

fongiques sont saprophytes. Ces champignons contribuent à la décomposition de la matière organique pour mettre à disposition des nutriments dont la plante a besoin. Ce processus naturel contribue au recyclage des éléments nutritifs dans l'écosystème (Noemie, 2010).

Cependant, sous l'effet des pressions environnementales (modification des régimes de précipitations, accumulation des produits chimiques dans le sol, acidification des sols...) et des interactions complexes entre plantes et microorganismes, certains des champignons saprophytes peuvent devenir pathogènes (*Fusarium* spp., *Aspergillus* spp.). Les maladies fongiques constituent une sérieuse préoccupation car elles font partie des affections les plus destructives observées chez le bananier (Tahar & Zeradna, 2022). Elles sont provoquées par des champignons qui attaquent le système racinaire, le pseudo-tronc, les feuilles et les fruits. La fusariose du bananier causée par *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense (FOC) encore appelée maladie de Panama est l'une des maladies les plus destructrices du bananier (Ploetz, 2000). Une autre maladie du système racinaire est la nécrose des racines causée par les champignons du genre *Cylindrocladium* (Tuo *et al.*, 2017). Les cercosporioses du bananier sont des maladies fongiques causées par des champignons ascomycètes du genre *Mycosphaerella*. Ces champignons sont environnementaux et s'attaquent aux feuilles des bananiers. Quatre espèces, *Mycosphaerella fijiensis*, *Mycosphaerella musicola*, *Mycosphaerella musae* et *Mycosphaerella eumusae*, sont responsables respectivement de la maladie des raies noires (MRN) ou cercosporiose noire, de la maladie de Sigatoka (MS) ou cercosporiose jaune, de la maladie de feuille tachetée ou moucheture et de la maladie des tâches foliaires (Gasparotto *et al.*, 2005). En Côte d'Ivoire, la cercosporiose et la fusariose sont les maladies fongiques les plus dévastatrices du bananier (Esis *et al.*, 2020). Ainsi, des études ont été menées pour améliorer la productivité des bananiers par la lutte contre les cercosporioses (Tuo *et al.*, 2017). Aussi, une étude consacrée à la diversité de *Mycosphaerella* dans les bananeraies a démontré la présence de *M. fijiensis* et *M. musicola* avec une prédominance de *M. fijiensis* (Traore *et al.*, 2021). Les méthodes de lutte qui sont appliquées portent sur des traitements chimiques (application des fongicides), la succession des cultures (système de rotation entre le bananier et une autre culture), la sélection et l'amélioration variétale (Pegg *et al.*, 1996 ; Bakry *et al.*, 2005 ; Lassoudière, 2007). Ces dernières méthodes ont cependant montré leurs limites à cause de l'inaccessibilité au matériel végétal performant pour les paysans disposant de faibles revenus (Kra *et al.*, 2009), des méfaits sur l'environnement et la santé humaine et des difficultés à appliquer le système de rotation de cultures (Harman *et al.*, 2006).

Pour faire face à ces contraintes, l'utilisation de solutions biologiques innovantes ayant des propriétés de biostimulation, de biofertilisation et/ou de biocontrôle, s'avère utiles.

En effet dans la rhizosphère de certaines plantes, il existe des champignons saprophytes à actions bénéfiques telles que *Trichoderma* spp., *Talaromyces* spp. et *Penicillium* spp. Ces champignons jouent un rôle protecteur contre les pathogènes en produisant des substances antibiotiques. Cela permet d'inhiber les pathogènes et de protéger les racines des plantes contre les agents nuisibles, renforçant ainsi leur résistance aux maladies (Lheureux *et al.*, 2003). Ces champignons sont largement utilisés dans le biocontrôle des pathogènes des plantes à cause de leur grande capacité à produire des métabolites secondaires tels que les enzymes hydrolytiques, les métabolites antibiotiques et volatils et des peptides antifongiques et antibactériens (Afaf, 2020).

Ainsi, une connaissance approfondie de la communauté microbienne associée au système racinaire du bananier plantain dans la région du Haut-Sassandra est déterminante pour comprendre l'influence de cette flore sur le développement, la santé et la productivité du bananier. C'est dans ce contexte que se situe la présente étude dont l'objectif général est de contribuer à assurer une culture durable du bananier par l'exploration du potentiel des microorganismes des ressources écosystémiques.

Les hypothèses de cette étude sont :

- le climat, les propriétés du sol et les techniques culturales dans le Haut-Sassandra influencent l'abondance et la diversité des communautés de champignons rhizosphériques du bananier plantain ;
- la communauté de champignons rhizosphériques du plantain dans la région du Haut-Sassandra est caractérisée par une diversité de champignons saprophytes parmi lesquels se trouvent des champignons antagonistes capables d'inhiber efficacement le développement des pathogènes ;
- les champignons antagonistes agissent par la production de métabolites secondaires antifongiques capables de provoquer la lyse des cellules des champignons pathogènes.

Ainsi, les objectifs spécifiques qui en découlent sont :

- déterminer la typologie des bananeraies de la région du Haut-Sassandra ;
- établir la diversité des champignons présents dans le sol rhizosphérique du plantain dans la région du Haut-Sassandra ;
- rechercher *in vitro* des champignons antagonistes des pathogènes fongiques du bananier plantain.

Outre l'introduction et la conclusion générale, le présent document est subdivisé en trois parties. La première porte sur les généralités du bananier, des micromycètes et de la lutte biologique. La seconde partie traite du matériel et des méthodes utilisés pour atteindre les objectifs du travail. La troisième partie expose les résultats qui sont discutés.

# **PREMIÈRE PARTIE :**

## **GÉNÉRALITÉS**

## 1.1. Etude monographique du bananier

### 1.1.1. Historique du bananier

Le bananier est originaire des jungles tropicales chaudes et humides du Sud-Est asiatique. Dans cette région du monde, on trouve les espèces sauvages *Musa acuminata* (génome de type A) et *Musa balbisiana* (génome de type B) (Swennen & Vuylsteke, 2001). A partir de cette région, les bananiers se sont rependus à l'Est en Amérique du Sud mais surtout à l'Ouest à Madagascar/Zanzibar à travers les migrations indo-malaysiennes. Les bananiers ont aussi été rependus par les arabes et les portugais le long de la côte Est de l'Afrique, d'où ils ont traversé les pays de l'Afrique centrale jusqu'en Afrique de l'Ouest (Dhed'a et al., 2011). L'existence de nombreux cultivars de bananiers d'altitude en Afrique de l'Est et de plantains laisse supposer qu'ils sont cultivés depuis très longtemps en Afrique (Nyabyenda, 2006). Les plus anciennes références du bananier datent de 500 ans avant Jésus-Christ. Une légende indienne affirme que la banane est le fruit qu'Eve a tendu à Adam. Cela explique son appellation « fruit paradis ». Par ailleurs, cette croyance serait à l'origine du nom « paradisiaca » donné au bananier plantain (Haicour et al., 1998). Selon Lassoudière (2010), Linné a peut-être attribué à la banane le nom de *Musa* en l'honneur d'Antonius Musa (63 ans avant Jésus Christ), médecin de l'empereur romain Octave Auguste qu'il avait guéri d'une « obstruction du foie ». Deux autres origines sont aussi évoquées : l'une à partir du prophète Musa (environ 1200 ans avant Jésus Christ), né en Egypte et ayant suivi l'exode du peuple d'Israël de la Palestine ; l'autre à partir du nom de la grande ville commerciale d'Arabie méridionale, Muza, au centre des relations Egypte-Arabie-Inde correspondant à la cité actuelle de Moka (Lassoudière, 2010).

### 1.1.2. Description du bananier

Le bananier est une plante herbacée vivace. Elle est herbacée en raison de l'absence de croissance secondaire. En effet, après que les fruits soient parvenus à maturité, les parties aériennes fanent et s'affaissent. Elle est vivace car de nouveaux plants émis à la base du plant mature viennent remplacer les parties aériennes qui meurent. Le bananier est dans son état d'équilibre à partir de la formation des bourgeons latéraux assurant sa pérennité (Dhed'a et al., 2011). A maturité, le plant de bananier ou pied-mère se compose d'une souche ou bulbe portant des racines et émettant des rejets, des feuilles dont les gaines enroulées les unes dans les autres forment le faux tronc (pseudo-tronc) et d'un régime de fruits (Figure 1). Le stipe ou pseudo-tronc a une hauteur variant de 2 à 8 m selon les espèces et un diamètre de 30 cm ou plus (Lassoudière, 2010). La véritable tige du bananier appelée rhizome ou bulbe est souterraine. Ce rhizome produit vers le haut, des feuilles munies des gaines ainsi que des ramifications

latérales qui sortent de la terre à son pourtour. Les feuilles produites à partir du rhizome ont une surface moyenne comprise entre 2,5 et 3 m<sup>2</sup> selon les variétés. Le rhizome constitue donc l'élément de reproduction végétative du bananier. Il produit vers le bas des racines qui s'enfoncent dans le sol. L'inflorescence qui est annoncée par l'apparition des bractées, se présente comme un cône violacé. Celui-ci se dirige d'abord vers le haut puis, suite à la croissance du rachis, se dirige vers le bas (géotropisme positif), tout en déployant des gaines violacées, des bractées portant à leurs aisselles des doubles rangées de fleurs femelles. Chacune de ces fleurs, après développement parthénogénique de son ovaire donnera un « doigt » ou banane qui, à la chute de la bractée, se recourbe vers le haut (géotropisme négatif). Chaque nœud ou double rangée de doigts constitue une main. Quant aux fleurs mâles, elles restent regroupées sur le cône violacé à l'extrémité basale de l'inflorescence (Skiredj *et al.*, 2005).

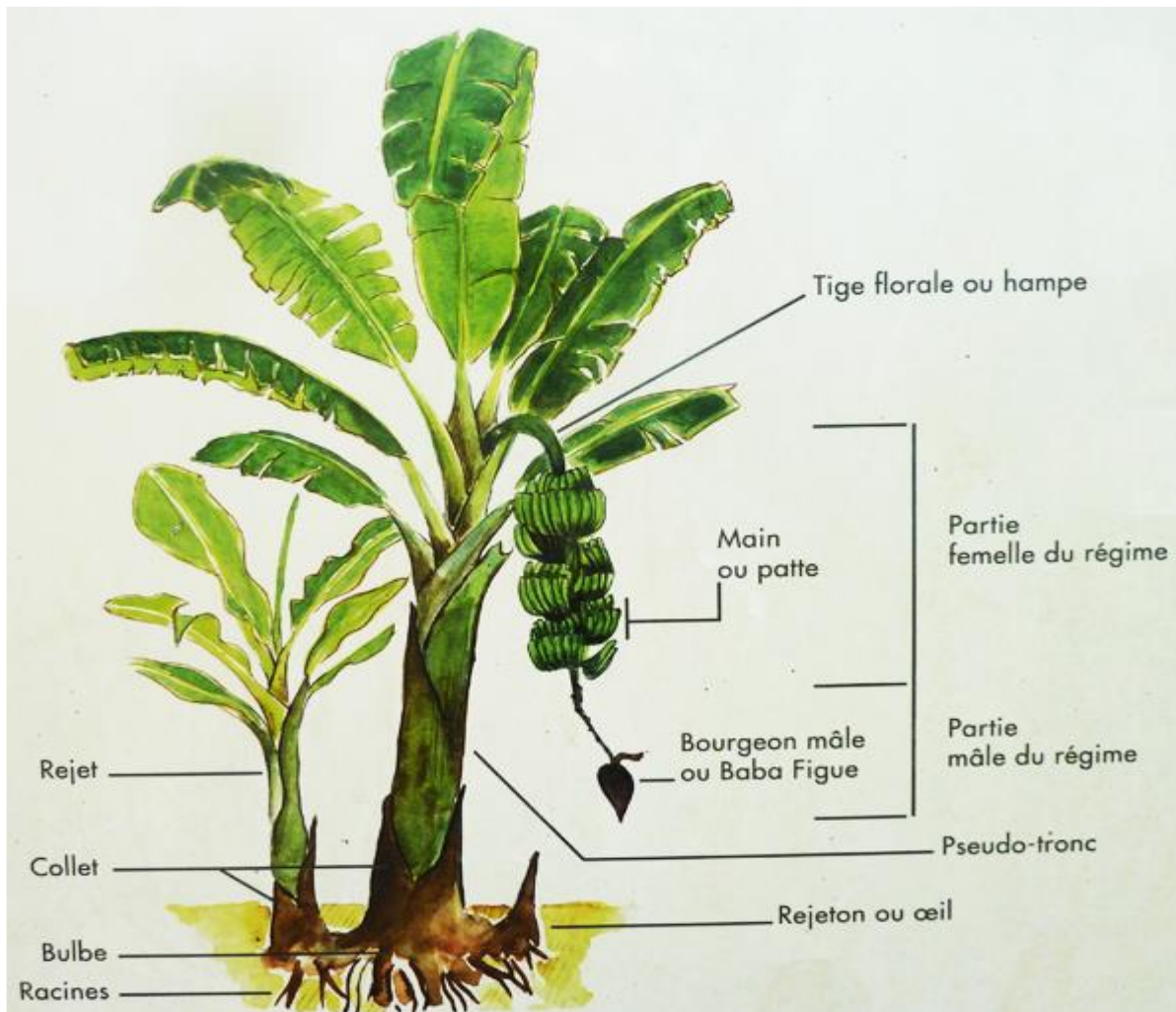


Figure 1 : Anatomie du bananier (Lescot, 2006)

### 1.1.3. Taxonomie et caractéristiques génotypiques

Les bananiers sont des monocotylédones géantes appartenant à l'ordre des Scitaminales ou Zingibérales et à la famille des *Musaceae*. Cette famille comporte trois genres à une forte variabilité que sont *Musella*, *Ensete* et *Musa* (Lassoudière, 2007). Les variétés actuelles de bananier proviennent de l'hybridation intra et interspécifique des deux espèces sauvages à graines diploïdes, *Musa acuminata* et *Musa balbisiana*. Ainsi, *M. acuminata* est à l'origine de tous les bananiers à fruits parténocarpiques, seul ou avec la participation de *M. balbisiana* par le biais de mutation naturelle (Dhed'a *et al.*, 2011). Le genre *Musa* est divisé en quatre sections (*Australimusa*, *Callimusa*, *Eumusa*, *Rhodochlamus*) sur la base du nombre de chromosomes et de caractéristiques morphologiques. *Eumusa* (n = 11) est la seule section qui a donné des espèces parthénocarpiques. La contribution haploïde de *M. acuminata* (AA) et *Musa balbisiana* (BB), par ailleurs espèces principales du genre *Musa*, aux bananiers est indiquée respectivement par A et B (Temple & Kwa, 2019). La majorité des bananes comestibles proviennent des espèces *M. acuminata* et du croisement *M. acuminata* x *M. balbisiana*. Les bananes exportées sont principalement les bananes « desserts » triploïdes de l'espèce *M. acuminata* AAA et des sous-groupes des « Cavendish » (Lassoudière, 2007).

La taxonomie du bananier se présente de la manière suivante (Bakry *et al.*, 1997) :

|                    |                         |
|--------------------|-------------------------|
| Règne              | : Végétal               |
| Embranchement      | : Phanérogames          |
| Sous-embranchement | : Angiospermes          |
| Classe             | : Liliopsida            |
| Sous-classe        | : Zingiberidae          |
| Ordre              | : Zingibérales          |
| Famille            | : Musaceae              |
| Genre              | : <i>Musa</i>           |
| Espèce             | : <i>Musa acuminata</i> |

### 1.1.4. Diversité variétale du bananier en Côte d'Ivoire

Bien que le bananier soit originaire de l'Asie du Sud-est, où il est retrouvé de l'Inde à la Polynésie (Frison & Sharrock, 1998), une diversité génétique considérable a été mise en évidence en Afrique de l'Ouest, dans le Golfe de Guinée faisant de cette région une zone secondaire de diversification des bananiers plantains. Plus d'une centaine de variétés de

bananier plantain ont été collectées et caractérisées dans les différentes zones prospectées en Côte d'Ivoire. Cela a permis de mettre en évidence trois types de bananiers les plus cultivés en Côte d'Ivoire. Il s'agit des types French, Vrai corne et Faux corne. Un quatrième type a été également mis en évidence, le type Batard qui est intermédiaire entre le Faux corne et French (Kouassi, 2006 ; Thiémélé *et al.*, 2017). La plupart des variétés identifiées et collectées ont eu des appellations différentes en fonction des ethnies du producteur qui met à disposition le matériel végétal. Plusieurs critères de description variétale sont utilisés par les producteurs pour classer les variétés entre elles (Thiémélé *et al.*, 2017). Il s'agit de la couleur et la taille du régime, la grosseur, la longueur et l'orientation des doigts, l'existence ou non du bourgeon mâle, la couleur du pseudo-tronc, ainsi que le goût et la tendreté de la pulpe de plantain.

#### 1.1.5. Écologie du bananier

Les bananiers sont généralement cultivés dans les zones agroécologiques situées entre 30° latitudes Nord et Sud (Dhed'a *et al.*, 2011). Ce sont des plantes de climat humide et chaud, appréciant une hygrométrie élevée, un bon ensoleillement, mais craignant les vents et les variations brusques de température (Kouassi, 2006). La température et le rayonnement sont les facteurs essentiels influençant la croissance de la plante. Ils interviennent dans le métabolisme par le mécanisme de la transpiration et la photosynthèse. Le bananier supporte des fortes insulations si l'approvisionnement hydrique est suffisant (par exemple 35 mm de précipitations par semaine en climat chaud et humide). La forte nébulosité ralentit la végétation et augmente la taille des rejets. Le manque de lumière agit donc sur la hauteur des plants et peut faire « filer » les rejets (Lassoudière, 2007). Le bananier est une plante exigeante en éléments minéraux. Les éléments minéraux indispensables à son développement sont l'azote, le phosphore, le potassium, le calcium et le magnésium. Ils sont souvent apportés sous forme d'engrais organiques comme le fumier, le compost, les biofertilisants et les déchets agroindustriels (Laprade & Ruiz, 1999). L'optimum de la température varie entre 25 et 30 °C. Au-delà de 35 à 40 °C et en deçà de 14 °C, des anomalies surviennent. Ainsi les feuilles accusent un retard de croissance qui se manifeste par une lente émission de feuilles plus courtes (Swennen & Vuylsteke, 2001). Le vent augmente d'une part le flux transpiratoire par l'ouverture des stomates et d'autre part, il engendre souvent la lacération des limbes réduisant ainsi la capacité photosynthétique. Les vents violents peuvent provoquer des dommages considérables chez le bananier, soit en brisant les feuilles aux pétioles, soit en cassant les pseudo-troncs ou encore en déracinant complètement la plante (Dhed'a *et al.*, 2011).

### 1.1.6. Culture du bananier

#### 1.1.6.1. Choix du terrain et préparation du sol

Une bonne préparation du sol pour le bananier comprend d'abord, le broyage et l'enfouissement des détritux végétaux, de préférence plusieurs semaines avant la plantation. Ensuite, il est important de défoncer le sol sur la plus grande profondeur possible. Puis, il faut réaliser des canaux ou fossés de drainage pour obtenir un sol bien ressuyé et éliminer les eaux stagnantes, si nécessaire. Enfin, le griffage doit être effectué sur 10 à 20 cm de profondeur pour enfouir les amendements et ameublir la surface du sol (Seydou *et al.*, 2015). Pour s'assurer d'une bonne qualité du fruit, il est nécessaire d'apporter aux bananiers un minimum de soins et de choisir un terrain adapté. Cela sous-entend que les terrains doivent être assez profonds, meubles, fertiles et bien drainés. Le pH optimal doit également être compris entre 5,5 et 7,5 (Thiémélé *et al.*, 2017).

#### 1.1.6.2. Semis et plantation

Les semences peuvent être des rejets de 0,80 à 1 m de hauteur avec un bulbe bien formé (15 à 20 cm de diamètre) et des feuilles étroites ou des plants issus de fragments de tige à partir de la technique PIF (Temple & Kwa, 2019). La technique PIF (Plants Issus de Fragments) permet de produire en masse et hors du champ, du matériel sain en 3 ou 4 mois et à toutes les périodes de l'année avec en moyenne 100 plants pour un rejet. Elle consiste à exploiter la partie souterraine (bulbe) du bananier pour la multiplier. En fait, la tige du bananier possède dans sa partie apicale un organe central qui contrôle la croissance de la plante ainsi que la production des rejets : c'est le méristème apical. La technique de PIF vise à « blesser » le méristème sans le tuer, pour le déséquilibrer en vue de favoriser un développement rapide de tous les bourgeons au même moment. Pour cela, on utilise les rejets prélevés en champ qui subissent une série de traitements avant d'être introduits dans une enceinte appelée germoir (Figure 2) où ils vont produire de nombreuses plantules (FIRCA, 2017).



**Figure 2** : Présentation d'un germoir (Seydou *et al.*, 2015)

La plantation de bananiers peut se faire toute l'année mais il est conseillé de procéder en saison des pluies. La procédure de plantation consiste d'abord à réaliser des trous de 20 à 30 cm de profondeur sur les lignes de plantation. Ensuite, le rejet paré est placé et maintenu de façon verticale bien au centre du trou. Puis, le trou est rempli avec le reste de terre de surface. Enfin, la terre ne doit pas être remontée le long du plant ; au contraire, une dépression doit être laissée autour du plant après le tassage, afin de faciliter les buttages ultérieurs. Cependant, pour les vitro plants, il est essentiel de retirer le plant du pot en évitant de couper les racines puis de le positionner au centre du trou. La densité et la disposition des plants de bananiers sont des choix clés pour le rendement, la qualité, la durée du cycle et la durée de vie de la bananeraie. Pour cela, il est conseillé de laisser 3,60 m entre les lignes et 1,80 m entre les plants ; ce qui donne une densité d'environ 2650 pieds/hectare (FIRCA, 2017).

#### **1.1.6.3. Entretien**

Les activités de l'entretien comportent le désherbage, la fertilisation, la régénération de la bananeraie, le tuteurage, les soins aux régimes, l'engainage, le dégagement des régimes et la lutte contre les nuisibles. La conduite de la plantation nécessite un suivi du développement des adventices. Différentes méthodes peuvent être utilisées et combinées afin de maîtriser l'état d'enherbement de la parcelle à savoir le désherbage manuel ou mécanique (binage, sarclage,

griffage). On peut aussi, pratiquer la destruction chimique des mauvaises herbes avant l'implantation de la culture (Seydou *et al.*, 2015). Au niveau de la fertilisation, les bananiers ont des besoins très importants en azote et potassium et très faibles en phosphore (FIRCA, 2017). La régénération de la bananeraie se fait par œilletonnage. Elle a pour objectif de sélectionner le rejet qui remplacera le bananier qui a porté le régime afin d'assurer la bonne productivité et la longévité de la plantation (FIRCA, 2017). Quant au tuteurage, il faut dire que si le bananier penche d'un côté, il peut être soutenu avec un tuteur bien ancré dans le sol et qui le maintient du côté où il penche. Si les bananiers sont bien droits, ils peuvent être maintenus avec 2 tuteurs croisés, afin d'éviter la casse par le vent. Les soins des régimes se font par ablation de la "popote" (fleur mâle) et par ablation des fausses mains et premières vraies mains. Ils favorisent l'allongement des fruits avec un gain de poids du régime allant de 2 à 5 %. L'engainage consiste à protéger le régime contre les attaques de nuisibles (thrips, oiseaux...) en l'enveloppant dans un tissu ou plastique (Gasparotto *et al.*, 2005). Au niveau du dégagement des régimes, il faut noter qu'au cours de la maturation du régime, on supprime toutes les feuilles qui sous l'effet du vent risquent de frotter le régime. Un passage par semaine est nécessaire. Dans la mesure du possible on ne coupera que la partie de la feuille qui risque de gratter le régime pour conserver le maximum de surface foliaire. Enfin la lutte contre les nuisibles se fait à travers des luttes préventives, biologique et curative (Seydou *et al.*, 2015).

#### **1.1.6.4. Récolte**

La récolte des régimes se fait en moyenne un an après la plantation. Il est conseillé de récolter les régimes lorsque les bananes sont entièrement développées, c'est-à-dire lorsque le fruit est plein et que son extrémité s'est remplie. Si on laisse le fruit trop mûrir sur pied, il se fend et s'altère, alors qu'un fruit vert, cueilli même trop tôt, continue de mûrir (Tabarant, 2011).

#### **1.1.7. Importance du bananier**

Le bananier comme la plupart des plantes des pays tropicaux a un usage multiple à savoir alimentaire, pharmacologique, utilitaire. Par exemple, le fruit est utilisé dans la réalisation de frites (Aloco, Chips, Claclo ...), de purée de banane (Foutou, Foutou ...) (Mosso *et al.*, 1996). L'espèce *Musa textilis* est exploitée pour l'extraction de longues fibres dans les gaines foliaires servant à la fabrication de filets de pêche, de billets de banque, des cordes, des vêtements et des chapeaux. Les feuilles sont utilisées pour stocker les fèves de cacao lors de la récolte.

Elles servent aussi de toiture pour certaines paillotes. Le bananier est utilisé en médecine traditionnelle pour soigner diverses affections telles que les caries dentaires, les aphtes, la cataracte, la dysenterie, l'incontinence urinaire, la ménorragie et les palpitations cardiaques.

Les bananes plus amères ou bananes à bière entrent dans la confection du vin de bananes (Aké, 1987 ; Lescot, 2006).

#### **1.1.8. Valeurs nutritionnelles du bananier**

Le bananier est une plante alimentaire cultivée pour ses fruits, qui peuvent être consommés frais (bananes dessert) ou cuits (plantains). Ces fruits sont particulièrement riches sur le plan nutritionnel, offrant une combinaison de glucides, de minéraux et de vitamines essentiels à la santé (Sharrock & Lusty, 2000). Très digestible, la banane est souvent le premier aliment solide introduit aux enfants dans les tropiques (Schoofs, 1997). Elle constitue une excellente source de glucides (environ 23 % pour la banane dessert et 31 % pour le plantain) et est également riche en minéraux tels que le potassium, le calcium et le phosphore, ainsi qu'en vitamines A et C (Temple & Kwa, 2019). De plus, la banane se distingue par sa teneur élevée en protéines par rapport à d'autres fruits, son absence de cholestérol, et sa très faible quantité de sodium, ce qui la rend idéale pour les régimes sans sel. Ces fruits sont également faibles en graisses et particulièrement bénéfiques en raison de leur forte teneur en fibres alimentaires, qui favorisent une digestion saine. Leur teneur en eau, atteignant environ 74 % pour la banane et 65 % pour le plantain, contribue à leur faible apport calorique tout en assurant une bonne hydratation (Krishnamoorthy, 2002) (Tableau I).

**Tableau I :** Valeurs nutritionnelles de la banane et du plantain pour 100 g de portion comestible crue (Schoofs, 1997)

| Substance nutritive         | Banane | Plantain |
|-----------------------------|--------|----------|
| Eau (g)                     | 74,26  | 65,28    |
| Énergie (kcal)              | 92     | 122      |
| Protéine (g)                | 1,03   | 1,3      |
| Matières grasses (g)        | 0,48   | 0,37     |
| Glucides (g)                | 23,43  | 31,89    |
| Calcium (mg)                | 6      | 3        |
| Fer (mg)                    | 0,31   | 0,6      |
| Potassium (mg)              | 396    | 499      |
| Sodium (mg)                 | 1      | 4        |
| Vitamine C (mg)             | 9,1    | 18,4     |
| Thiamine (mg)               | 0,045  | 0,052    |
| Riboflavine (mg)            | 0,1    | 0,054    |
| Niacine ou vitamine B3 (mg) | 0,54   | 0,686    |
| Vitamine A (UI)             | 81     | 1127     |
| Graisses saturées (g)       | 0,185  | 0,143    |
| Graisses monoinsaturées (g) | 0,041  | 0,032    |
| Graisses polyinsaturées (g) | 0,089  | 0,069    |

### 1.1.9. Ravageurs et maladies du bananier en Côte d'Ivoire

#### 1.1.9.1. Ravageurs du bananier

Le principal ravageur du bananier est le charançon du genre *Cosmopolites*. L'attaque occasionnée par ce charançon provoque un étiolement des feuilles situées à la périphérie qui se dessèchent premièrement. Le système racinaire se dessèche également puis fini souvent par faire tomber la plante suite à un vent (Padmanaban & Sathiamoorthy, 2001 ; Amani *et al.*, 2023). Outre celui-ci, il y'a le charançon *Odoiporus longicollis* (Oliver) dont la larve se nourrit des tissus à l'intérieur du pseudo-tronc, dans lequel il creuse une multitude de galeries atteignant parfois la tige proprement dite. Si les larves apparaissent avant le stade de floraison, elles dévorent le pseudo-tronc, bloquant ainsi le développement du bourgeon (Padmanaban & Sathiamoortby, 2001 ; Péréfarres, 2006). De plus, le nématode *Radopholus similis* est l'un des

importants parasites du système racinaire. Ce parasite se nourrit du cytoplasme des cellules du parenchyme cortical. La pénétration du parasite provoque la destruction des parois cellulaires, ce qui entraîne la formation de tunnel qui deviennent des nécroses (Sarah, 1990 ; Rodde, 2010). Les nématodes *Pratylenchus coffeae* et *P. goodey* provoquent également des dégâts similaires à ceux de *R. similis* (Bridge *et al.*, 1997 ; Tabarant, 2011).

### 1.1.9.2. Maladies du bananier

#### 1.1.9.2.1. Maladies pré-récolte

Les bananiers sont soumis à de nombreuses contraintes parasitaires parmi lesquelles les maladies fongiques, très répandues et destructives. Elles sont provoquées par des champignons qui attaquent le système racinaire, le pseudo-tronc, les feuilles et les fruits. La fusariose du bananier causée par *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense Snyder et Hansen (FOC) encore appelée maladie de Panama est l'une des maladies les plus destructrices du bananier (Ploetz, 2000). *Fusarium oxysporum* colonise le xylème du pseudo-tronc des variétés susceptibles et provoque un flétrissement vasculaire létal (Lassoudière, 2007). Une autre maladie du système racinaire est la nécrose des racines causée par les champignons du genre *Cylindrocladium*. Les cercosporioses du bananier sont aussi des maladies fongiques causées par des champignons ascomycètes du genre *Mycosphaerella*. Quatre espèces, *Mycosphaerella fijiensis*, *Mycosphaerella musicola*, *Mycosphaerella musae* et *Mycosphaerella eumusae*, sont responsables respectivement de la maladie des raies noires (MRN) ou cercosporiose noire, de la maladie de Sigatoka (MS) ou cercosporiose jaune, de la maladie de feuille tachetée ou moucheture et de la maladie des tâches foliaires. Elles attaquent le système foliaire et peuvent provoquer sur les variétés sensibles des pertes de rendement très significatives (Fouré *et al.*, 1990). Ces maladies qui se caractérisent par des tâches foliaires et un dessèchement important des feuilles font partie des affections cryptogamiques les plus dévastatrices du bananier (Gasparotto *et al.*, 2005).

Les maladies virales affectant les bananiers sont principalement dues à la maladie de Bunchy Top, causée par le Banana Bunchy Top Virus (BBTV). Ce virus est transmis par l'Aphidae, un puceron du bananier (*Pentalonia nigronervosa*), et se propage via la multiplication végétative des plants infectés (Lepoivre, 2003). Une autre maladie, la mosaïque des bractées du bananier, est provoquée par un potyvirus, plus précisément le virus de la mosaïque des bractées du bananier (BBBrMV). Cette infection se caractérise par l'apparition de taches brunes sur les bractées des plants infectés, ainsi que des décolorations et une pigmentation du pseudo-tronc. La mosaïque en plages du bananier, quant à elle, est causée par

le virus de la mosaïque du concombre (CMV), dont deux des trois groupes sérologiques sont particulièrement significatifs. Ce virus a une large gamme d'hôtes et les symptômes sont les plus prononcés entre deux à trois mois après la plantation. La contamination peut se produire en pépinière ou en champ, bien que les raisons de la sensibilité accrue de certains plants demeurent inconnues (Sarah, 1990). Enfin, le Banana Streak Virus (BSV) se distingue par le fait que certaines parties de son génome sont intégrées dans le génome de la plante hôte. Au moins cinq souches différentes de ce virus sont intégrées dans le génome de *Musa balbisiana* (Ndowora *et al.*, 1999 ; Lheureux *et al.*, 2003).

Parmi les maladies bactériennes les plus importantes sont la maladie de Moko et le flétrissement bactérien (Raemaekers, 2001). La maladie de Moko est causée par *Ralstonia solanacearum* (*Pseudomonas solanacearum*). On distingue deux faciès de symptômes selon que la bactérie est disséminée par le sol, les outils utilisés en plantation (machettes, etc.) ou bien par les insectes qui visitent les fleurs mâles ou leurs cicatrices après abscission (Raemaekers, 2001). La colonisation bactérienne ascendante se traduit d'abord par une chlorose et le flétrissement des trois plus jeunes feuilles et le bananier meurt. Une section transversale du pseudo-tronc (ou de la souche) montre une coloration brun rougeâtre des faisceaux vasculaires. Si le plant contaminé porte un régime, la bactérie colonise l'ensemble des tissus vasculaires du fruit via le rachis. Lorsque la bactérie est transmise par une machette par exemple, après la coupe du pseudo-tronc, les rejets contaminés (ou baïonnettes) noircissent et rabougrissent en 2 à 4 semaines (Eric & Luc, 2020). Le flétrissement bactérien ou Banana *Xanthomonas* Wilt (BXW) encore appelé Banana Bacterial Wilt Disease (BBW) est causé par *Xanthomonas campestris*. Les symptômes s'observent surtout après le stade rejet à feuilles lancéolées, particulièrement à la floraison (Eric & Luc, 2020). Ces symptômes se manifestent par une décoloration et un flétrissement des bractées florales, un noircissement et un racornissement du bourgeon mâle. Les feuilles jaunissent, flétrissent, noircissent, fanent et se cassent (y compris le faux tronc). On observe aussi des rayures jaunes ou brunes au niveau vasculaire sur toute la plante, ainsi qu'une sécrétion bactérienne jaune pâle à la base du faux tronc ou de la souche, lors d'une coupe transversale. Ceci entraîne le flétrissement des régimes avec maturation prématurée et coloration interne brun rougeâtre des fruits. La plante meurt dans le mois de l'apparition de n'importe lequel de ces symptômes (Raemaekers, 2001 ; Eric & Luc, 2020).

### 1.1.9.2.2. Maladies post-récolte

Les maladies post-récoltes du bananier sont principalement causées par des attaques fongiques. Les champignons affectant les fruits de bananiers occasionnent de nombreuses pertes tant quantitatives que qualitatives, car les fruits attaqués ne peuvent plus être vendus et donc rejetés par les consommateurs (Leplat *et al.*, 2010 ; Meddah *et al.*, 2010). L'infection de la couronne ou du coussinet est l'une des infections les plus dommageables. Elle provient de la double action de plusieurs champignons et des bactéries (Zhang *et al.*, 2017). Les champignons les plus observés au niveau de la couronne sont *Colletotrichum musea*, *Fusarium roseum*, *Fusarium senitectum* et *Botryodiplodia theobromae* (Merzouki, 2018). L'infection se caractérise par un ramollissement et un noircissement des tissus au niveau de la « plaie » sur le fruit. Les parties infectées deviennent noires et la pourriture se propage au pédoncule et ou en cas d'infection grave les doigts se détachent (Ploetz *et al.*, 1994 ; Selami, 2015). Le champignon *Colletotrichum musea* est responsable de l'anthracnose de la banane. Il peut se développer aussi bien au niveau du fruit vert que sur le fruit mûr. Sur le fruit vert, il provoque des blessures de couleur brun foncé ou noire. Les symptômes sur les fruits mûrs se manifestent par des taches de formes circulaires avec une couleur brune parfois noire. Les parties infectées provoquent un murissement rapide du fruit qui pourrit empêchant la vente (Singh, 2018). La pourriture à *Trachysphaera* est due à un agent *Trachysphaera fructigena*. La maladie provoque une nécrose noire recouverte de conidies blanches ou brunes. Aussi on observe une momification de la pulpe résultant d'une pourriture sèche ou molle en cas de pourriture humide (Meddah *et al.*, 2010).

## 1.2. Rhizosphère

### 1.2.1. Définition

Le terme « rhizosphère » a été introduit en 1904 par Lorenz Hiltner, bactériologiste et spécialiste de la microbiologie du sol, ainsi que professeur d'agronomie au Collège Technique de Munich. Le mot « rhizo » vient du grec « rhiza », signifiant racine, tandis que « sphère » provient du latin « sphaera » et du grec ancien « sfaira », désignant une balle, un ballon ou un globe. La « sphère » fait ainsi référence à l'aire d'influence du système racinaire. En raison de son volume relativement réduit par rapport à celui de la plante, la rhizosphère est parfois appelée « la moitié cachée » (ou « the hidden half » en anglais). Sur le plan pédologique, la rhizosphère représente environ 1 à 3 % du volume total du sol (Curl & Truelove, 2012).

Aujourd'hui, la rhizosphère désigne la zone du sol directement influencée par les racines des plantes et les micro-organismes qui y résident, faisant partie intégrante du microbiote végétal. Cette zone, généralement peu profonde, varie entre 10 et 20 cm sous les prairies ou

pelouses, mais peut atteindre des profondeurs bien plus importantes, de 20 à 50 cm, dans certaines cultures telles que les bananiers, les cacaoyers, les hévéas ou les caféiers. Elle se caractérise par une grande diversité microbienne, en particulier une forte concentration de bactéries et de champignons microscopiques. La rhizosphère constitue un environnement propice aux échanges entre ces micro-organismes et les plantes, échanges qui modifient les propriétés physiques et chimiques du sol (Selami, 2015).

### **1.2.2. Microorganismes de la rhizosphère et leurs rôles**

#### **1.2.2.1. Champignons**

Dans la rhizosphère, une grande variété de champignons coexiste, chacun jouant un rôle spécifique et essentiel pour maintenir l'équilibre du système racinaire. Parmi ces champignons, les mycorhiziens, tels que *Glomus* spp., forment une relation symbiotique avec les racines des plantes. Cette collaboration facilite l'absorption de nutriments, notamment le phosphore, au bénéfice des deux parties : le champignon reçoit des sucres produits par la plante, tandis que celle-ci profite d'une meilleure nutrition (Sarasin, 2011). Parallèlement, certains champignons rhizosphériques jouent un rôle saprophytique en décomposant la matière organique morte : ce sont les micromycètes (Bowman, 2006). Ces champignons microscopiques regroupant les levures et les champignons filamenteux (moisissures) sont hétérotrophes, et plus particulièrement absorbotrophes (Simpson *et al.*, 2005). Ils transforment les résidus végétaux en éléments nutritifs, enrichissant le sol et favorisant la croissance des plantes (Noemie, 2010). Parmi ces champignons, des genres tels que *Trichoderma* spp., *Talaromyces* spp. et *Penicillium* spp. jouent un rôle protecteur en produisant des substances antifongiques. Cela permet d'inhiber les champignons pathogènes et de protéger les racines des plantes contre les agents nuisibles, renforçant ainsi leur résistance aux maladies fongiques (Lheureux *et al.*, 2003). Cependant, certaines espèces, telles que *Fusarium* spp. et *Aspergillus* spp., qui sont habituellement saprophytes, peuvent devenir pathogènes dans la rhizosphère sous l'effet de pressions environnementales et d'interactions complexes. Ces champignons peuvent provoquer des maladies graves, comme la fusariose ou la pourriture des fruits et des racines. Cela perturbe la croissance des plantes, affaiblit leurs racines et réduit les rendements, affectant ainsi leur production (Noemie, 2010).

#### **1.2.2.2. Bactéries**

La rhizosphère abrite une grande diversité de bactéries, qui jouent un rôle essentiel dans la nutrition et la protection des plantes. Parmi celles-ci, les bactéries diazotrophes telles que *Azospirillum* et *Rhizobium* sont capables de fixer l'azote atmosphérique, améliorant ainsi la

disponibilité de cet élément nutritif pour les plantes (Gawryjolek *et al.*, 2021). De plus, certaines bactéries PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria), comme certaines espèces de *Bacillus* et de *Pseudomonas*, favorisent la croissance des plantes en produisant des phytohormones et des substances antimicrobiennes, tout en renforçant la résistance aux maladies (Singh, 2018). D'autres bactéries, telles que les espèces du genre *Streptomyces*, agissent de manière bénéfique en inhibant les pathogènes et en facilitant l'accès aux nutriments. En effet, les *Streptomyces* sont des bactéries saprophytes qui dégradent les matières organiques du sol à l'aide de nombreuses enzymes hydrolytiques extra-cellulaires, contribuant ainsi activement à la formation de l'humus. Par ailleurs, des bactéries solubilisatrices de phosphore, comme *Bacillus megaterium*, facilitent également l'accès aux nutriments essentiels en solubilisant le phosphore dans le sol (Soufiane, 1999 ; Merzouki, 2018). Cependant, certaines bactéries présentes dans la rhizosphère peuvent être pathogènes et causer des maladies. Par exemple, des genres comme *Xanthomonas* et *Erwinia* sont responsables de diverses infections qui nuisent à la santé des plantes. Ainsi, bien que la rhizosphère abrite une variété de bactéries bénéfiques, certaines d'entre elles peuvent également représenter une menace pour les plantes (Saadaoui, 2021).

### 1.2.2.3. Protistes et nématodes

Les protistes et les nématodes présents dans la rhizosphère jouent des rôles essentiels pour la santé des racines et l'équilibre du sol. Les protistes, en majorité des protozoaires (comme *Acanthamoeba*) et des algues microscopiques (telles que *Chlamydomonas*), régulent les populations de bactéries et d'autres microorganismes en s'en nourrissant, ce qui contribue à maintenir un environnement stable autour des racines (Ranoarisoa, 2018).

Certaines algues, telles que *Chlorella* enrichissent également le sol en produisant des substances nutritives notamment des sucres, des protéines, des acides aminés, des vitamines (en particulier la vitamine B12 et la vitamine C), ainsi que des minéraux comme l'azote, le phosphore, le potassium et le fer. Ces substances améliorent la disponibilité des nutriments pour les plantes et favorisent une meilleure croissance des racines (Chabane, 2023 ; Bendjeddou & ismahan, 2023). En ce qui concerne les nématodes, leur impact peut être à la fois positif et négatif : les nématodes phytoparasites, comme *Meloidogyne incognita*, peuvent endommager les racines des plantes, tandis que les nématodes prédateurs tels que *Dorylaimus*, ainsi que ceux qui se nourrissent de champignons ou de bactéries comme *Aphelenchoides*, jouent un rôle dans la régulation des pathogènes du sol, ce qui favorise la santé des racines et de la plante (Mokrini *et al.*, 2020 ; Naily & Bouguir, 2022).

### 1.2.3. Facteurs influençant la communauté microbienne rhizosphérique

Les principaux facteurs influençant la communauté microbienne rhizosphérique sont le pH du sol, la teneur en matière organique, l'humidité, la température, la texture du sol, la salinité, la disponibilité des nutriments et la présence de contaminants ou de polluants. Le pH du sol joue un rôle fondamental dans la disponibilité des nutriments. Un pH légèrement acide (autour de 6 à 7) est optimal pour l'assimilation des éléments nutritifs essentiels. En revanche, un pH trop acide ou trop alcalin peut rendre certains nutriments moins accessibles et limiter la croissance des microorganismes bénéfiques (Martins, 2012). La teneur en matière organique, quant à elle, constitue une source de carbone pour la communauté microbienne, favorisant une activité microbienne accrue et un sol plus fertile. L'humidité du sol affecte directement la croissance des microorganismes ; des conditions trop sèches ou trop humides peuvent perturber leur activité, réduisant la diversité microbienne (Zamora *et al.*, 2006). La température du sol influence également l'activité des microbes, chaque espèce ayant des plages de température spécifiques pour une croissance optimale. Des températures extrêmes, trop froides ou trop chaudes, peuvent ralentir ou inhiber la croissance microbienne (Pettersson & Baath, 2003, Bell *et al.*, 2009). Par ailleurs, la texture du sol, qui dépend de la proportion de sable, d'argile et de limon, détermine la rétention d'eau et l'aération. Un sol bien aéré permet une activité microbienne plus importante, tandis qu'un sol mal drainé peut limiter la croissance microbienne. La salinité peut également perturber la communauté microbienne ; un excès de sel dans le sol peut être toxique pour certaines populations, tout en favorisant d'autres espèces tolérantes aux conditions salines (Gopalakrishnan *et al.*, 2015). En ce qui concerne la disponibilité des nutriments, des éléments comme l'azote, le phosphore et le potassium sont essentiels pour la croissance des plantes et la santé du sol, influençant ainsi la dynamique des communautés microbiennes. Enfin, la présence de contaminants ou de polluants tels que les métaux lourds ou les pesticides peut perturber l'équilibre des populations microbiennes en inhibant la croissance de certaines espèces et en favorisant celles capables de tolérer des conditions extrêmes (Singh, 2018).

## 1.3. Champignons filamenteux ou moisissures

### 1.3.1. Caractéristiques morphologiques des champignons filamenteux

Les champignons filamenteux sont composés d'un appareil végétatif appelé thalle. Ce thalle est composé de filaments ou hyphes enchevêtrés les uns par rapport aux autres, et l'ensemble des hyphes constituent un réseau appelé mycélium (Ropars *et al.*, 2012). Les hyphes sont diffus, tubulaires et fins avec un diamètre compris entre 2 et 15  $\mu\text{m}$  et sont plus ou moins

ramifiés. Chez certaines moisissures, comme *Mucor*, les cellules ne sont pas séparées par une cloison transversale ; le thalle est alors dit coenocytique ou « siphonné ». Cependant, chez d'autres, comme *Aspergillus*, le thalle est cloisonné ou « septé ». Les cloisons, appelées septa possèdent des perforations assurant la communication entre les cellules (Figure 3) (Karaffa *et al.*, 2001).



**Figure 3** : Structure de l'hyphe (a : hyphe coenocytique ; b : hyphe cloisonnée)

### 1.3.2. Phases de développement et types de reproduction des champignons filamenteux

Le développement des moisissures comprend deux phases à savoir la phase végétative et la phase reproductive. Pendant la phase végétative, qui correspond à la phase de croissance, l'appareil végétatif colonise le substrat par extension et ramification des hyphes. Les ramifications peuvent se faire par dichotomie (apex) ou par bourgeonnement (latéral) (Aurélie, 2013). La phase végétative correspond également à la phase de nutrition. Les hyphes absorbent à travers leur paroi, l'eau ainsi que les éléments nutritifs contenus au sein du substrat tout en dégradant le substrat par émission d'enzymes et d'acides. La forme mycélienne en expansion, qui constitue une phase active de développement, est responsable de la dégradation et de l'altération du substrat (Bowman & Free, 2006). La phase reproductive comprend deux types de reproduction : la reproduction asexuée, correspondant à la forme anamorphe, et la reproduction sexuée, correspondant à la forme téléomorphe.

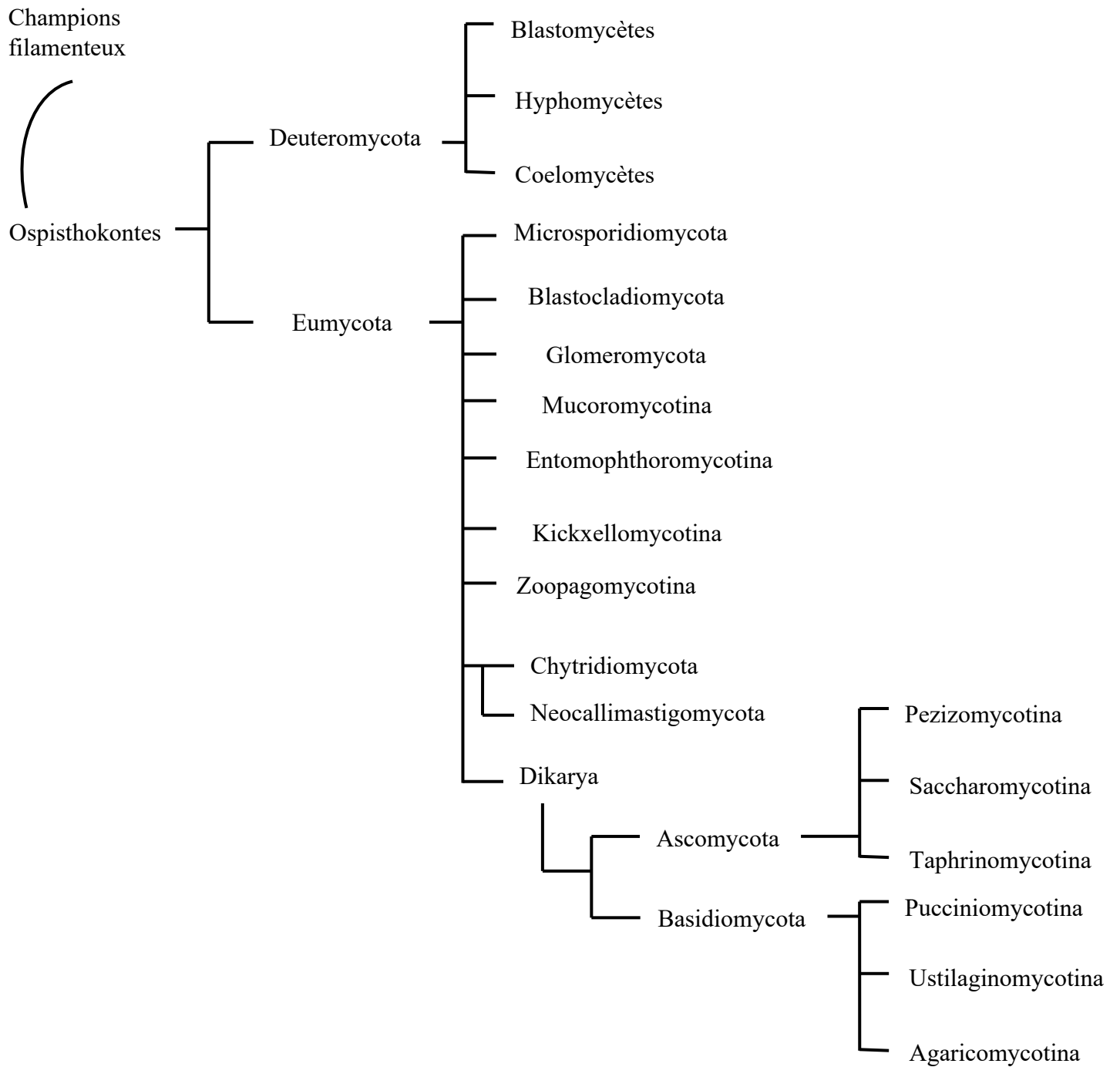
La reproduction asexuée se fait sans fusion de gamètes. Elle correspond majoritairement à la dispersion de spores asexuées, permettant la propagation des moisissures afin de coloniser d'autres substrats. Cette forme de reproduction asexuée est appelée la sporulation (Marin *et al.*, 2013). Au cours de la sporulation, les spores, petites cellules déshydratées au métabolisme réduit et entourées d'une paroi protectrice les isolant du milieu environnant, sont produites en

grande quantité par des structures spécialisées développées à partir du mycélium (Aurélié, 2013). Il existe différentes formes de reproduction asexuée et différents types de spores. Les spores peuvent être le résultat de la fragmentation. Dans ce cas, un nouvel organisme se développe à partir d'un fragment parent de mycélium (arthrospores). Les spores peuvent aussi être produites de manière endogène à l'intérieur du sporocyste (sporocystiospores), ou de manière exogène en continu à l'extrémité des structures spécialisées appelées phialides (conidiospores). Il existe différents modes de propagation des spores (Cantu *et al.*, 2009).

Les spores appelées gloeiospores sont véhiculées sur un nouveau substrat soit par contact, soit par des insectes ou soit par l'eau. Les spores appelées xérospores sont dissociables et légères, leur permettant d'être facilement dispersées par l'air (Aurélié, 2013). La reproduction sexuée se base sur la fusion de deux gamètes haploïdes ( $n$ ) donnant un zygote diploïde ( $2n$ ). Une structure (+) à  $n$  chromosomes rencontre une autre structure (-) et la fusion des cytoplasmes donne naissance à un nouveau mycélium à  $2n$  chromosomes. Il existe différents modes de fécondation en fonction des champignons à savoir la planogamie, l'oogamie-siphonogamie, la siphonogamie, la trichogamie, la cystogamie et la somatogamie (Santos *et al.*, 2010).

### 1.3.3. Phylogénie des champignons filamenteux

Dans le monde du vivant, les champignons (microscopiques et macroscopiques) représentent un règne à part au sein des eucaryotes. Ce règne est bien distinct de celui des protistes, des plantes ou des animaux (Cantu *et al.*, 2009). La classification phylogénétique basée sur des critères génotypiques a permis une révision et une modification de la classification des champignons filamenteux (Aurélié, 2013). Actuellement, les champignons filamenteux sont classés parmi les Opisthokontes constituant un groupe particulier d'eucaryotes. Le règne des « champignons vrais » ou Fungi, appelé Eumycota, comprend 10 divisions et celui des « champignons imparfaits » ou Fungi imperfecti, appelé Deuteromycota est divisé en trois classes (Verscheure *et al.*, 2002). La division des Dikarya se scinde en deux sous-divisions, Ascomycota et Basidiomycota. Les champignons appartenant au règne des Eumycota sont des champignons pour lesquels le mode de reproduction sexuée est connu. On parle alors de champignons téléomorphes. Pour certains champignons appelés anamorphes, le mode de reproduction sexuée est inconnu et seule une multiplication asexuée ou végétative est observée (Karaffa *et al.*, 2001). L'ensemble de ces champignons est regroupé au sein du règne des « champignons imparfaits ». La classification phylogénétique des champignons filamenteux se présente de la manière suivante (Figure 4) (Marin *et al.*, 2013) :



**Figure 4 :** Arbre phylogénétique des champignons filamenteux

### **1.3.4. Mode de nutrition, facteurs nutritifs et conditions de développement des champignons filamenteux (moisissures)**

#### **1.3.4.1. Mode de nutrition**

Les champignons observent différents modes de nutrition à savoir le saprophytisme, la symbiose, le commensalisme et le parasitisme (Maquelin *et al.*, 2002 ; Aurélie, 2013).

##### **1.3.4.1.1. Saprophytisme**

Le saprophytisme chez les champignons filamenteux consiste à dégrader la matière organique morte ou en décomposition pour extraire les éléments minéraux nécessaires à leur croissance. Ces champignons sécrètent des enzymes, comme des cellulases et des lignases, qui décomposent des substances complexes telles que la cellulose et la lignine. Grâce à ce processus, ils transforment la matière organique en composés plus simples, permettant ainsi la récupération du carbone, de l'azote et d'autres minéraux. Ce rôle est essentiel dans le recyclage des éléments nutritifs dans les écosystèmes et la fertilité des sols (Maquelin *et al.*, 2002).

##### **1.3.4.1.2. Symbiose**

La symbiose chez les champignons filamenteux consiste en une relation bénéfique avec un autre organisme. Par exemple, dans les mycorhizes, les champignons s'associent aux racines des plantes : le champignon aide la plante à absorber l'eau et des minéraux comme le phosphore, tandis que la plante lui fournit des sucres issus de la photosynthèse. De même, dans les lichens, un champignon se lie à une algue ou une cyanobactérie : le champignon protège l'organisme photosynthétique et lui fournit un environnement stable, tandis que l'algue ou la cyanobactérie produit des nutriments que le champignon utilise. Dans ces relations, les deux organismes sont qualifiés de symbiotes, chacun tirant profit de l'autre (Erukhimovitch *et al.*, 2009).

##### **1.3.4.1.3. Commensalisme**

Le commensalisme chez les micromycètes désigne une interaction dans laquelle ces microorganismes tirent des avantages de leur hôte sans lui causer de tort ni lui fournir de bénéfices en retour. Ainsi, certains champignons se nourrissent des débris de l'hôte, tels que les cellules mortes ou les sécrétions, qui leur apportent les nutriments nécessaires à leur développement. D'autres champignons exploitent l'hôte comme un refuge, sans lui nuire. Enfin, des champignons dépendent des insectes pour assurer la dispersion de leurs spores, sans

que ces derniers en aient conscience. Dans tous ces cas, les champignons tirent profit de leur hôte sans exercer d'impact négatif sur celui-ci (Aurélié, 2013).

#### **1.3.4.1.4. Parasitisme**

Le parasitisme chez les champignons repose sur leur capacité à extraire des nutriments de la matière vivante de leurs hôtes. Ce processus peut affaiblir voire tuer l'hôte, car les champignons consomment des ressources vitales nécessaires à sa survie. Certains champignons appartenant aux genres *Fusarium*, *Mycosphaerella* et *Aspergillus* peuvent causer des infections en perturbant l'équilibre de l'organisme hôte. Cette relation parasitaire illustre l'adaptation des champignons à exploiter d'autres organismes pour leur propre reproduction et croissance, souvent au détriment de la santé de l'hôte. Les conséquences peuvent être graves, car la croissance fongique peut entraîner des défaillances organiques ou des infections systématiques, pouvant mener à la mort de l'hôte dans les cas les plus sévères (Erukhimovitch *et al.*, 2009).

#### **1.3.4.2. Facteurs nutritifs**

##### **1.3.4.2.1. Source de carbone**

La grande majorité des espèces de champignons filamenteux possède une capacité remarquable à assimiler une large gamme de sources de carbone, ce qui leur permet de se développer dans des environnements variés. Cette flexibilité métabolique est un atout majeur pour leur survie et leur prolifération. Toutefois, certaines exceptions existent. Les moisissures ne parviennent généralement pas à décomposer les hydrocarbures, qui nécessitent des processus biologiques plus spécifiques pour être dégradés. Cela limite quelque peu leur capacité à se nourrir dans des substrats où ces composés sont prédominants (Benabderrahmane & Ziane, 2022).

##### **1.3.4.2.2. Source d'azote**

Les champignons filamenteux (moisissures), comme de nombreux micro-organismes, ont besoin de l'azote pour leur croissance et leur développement. Cependant, contrairement à certaines plantes et bactéries, elles ne peuvent pas assimiler l'azote sous sa forme gazeuse dans l'atmosphère. Elles dépendent donc de sources d'azote accessibles telles que le nitrate, l'ammonium et certains acides aminés, qu'elles absorbent directement à travers leur membrane cellulaire. Cette capacité d'absorption permet aux moisissures de coloniser divers substrats, où l'azote est souvent disponible sous ces formes spécifiques. Cependant, cette limitation souligne

aussi leur dépendance vis-à-vis des conditions environnementales pour l’approvisionnement en azote, un facteur crucial pour leur prolifération (Boissier, 2003).

#### 1.3.4.2.3. Source de sels minéraux et de vitamines

La croissance des champignons filamenteux nécessite divers sels minéraux, tels que le phosphore, le potassium, le magnésium, le calcium et le soufre. Pour accéder à ces nutriments, ils ont la capacité de sécréter des enzymes ou de produire des sidérophores et des acides organiques, facilitant ainsi leur absorption. Par ailleurs, certaines moisissures dépendent également de vitamines préformées comme la thiamine et la biotine, pour soutenir leur développement (Benabderrahmane & Ziane, 2022).

#### 1.3.4.3. Conditions de développement

La simple contamination d’un substrat ou d’un aliment par des spores de moisissures ne suffit pas à déclencher leur croissance ni la production de métabolites. En effet, pour qu’une moisissure puisse se développer et proliférer, des conditions environnementales particulières et des caractéristiques spécifiques du milieu doivent être réunies. Ces facteurs sont essentiels pour permettre leur croissance et leur activité métabolique (Baddi *et al.*, 2021).

##### 1.3.4.3.1. Activité d’eau et humidité relative

Le facteur environnemental le plus déterminant dans le développement des moisissures est l’humidité relative (HR), un paramètre clé qui est généralement mesuré à l’aide de la formule suivante :

$$HR = A_w \times 100 \quad (1)$$

$A_w$  désigne l’activité de l’eau, un indicateur direct de la disponibilité de l’humidité pour les micro-organismes. L’activité de l’eau ( $A_w$ ) est cruciale car elle reflète l’humidité disponible pour les champignons filamenteux et autres microorganismes. La plupart des moisissures se développent dans un intervalle d’ $A_w$  compris entre 0,85 et 0,99. Cela signifie que lorsque l’ $A_w$  atteint ce seuil, les conditions sont optimales pour la prolifération fongique (Benabderrahmane & Ziane, 2022).

##### 1.3.4.3.2. Température

La température joue un rôle crucial dans le développement des champignons filamenteux (moisissures). Les besoins thermiques varient d’une espèce à l’autre, ce qui signifie que chaque moisissure a une plage de température optimale pour se développer. La majorité des moisissures sont dites mésophiles, c’est-à-dire qu’elles prospèrent dans des conditions de température modérée, généralement entre 20 et 45°C. Cependant, certaines espèces de moisissures,

qualifiées de thermophiles ou thermotolérantes, sont capables de se développer dans des environnements beaucoup plus chauds, atteignant des températures pouvant aller jusqu'à 55°C. Ces moisissures thermophiles sont souvent présentes dans des milieux plus extrêmes, comme les composts ou les environnements industriels, où la chaleur est un facteur favorable à leur prolifération. Bien que la température ne soit pas le seul facteur influençant leur croissance, elle reste un critère essentiel pour déterminer les conditions favorables à leur développement (Baddi *et al.*, 2021).

#### **1.3.4.3.3. Oxygène**

Les moisissures, bien qu'étant des organismes aérobies nécessitant de l'oxygène pour leur croissance, peuvent se développer même lorsque la concentration en oxygène est jusqu'à dix fois inférieure à celle de l'atmosphère. Cela démontre leur capacité à s'adapter à des environnements moins oxygénés. Toutefois, c'est l'oxygène dissous dans le substrat qui influence bien plus leur croissance que l'oxygène atmosphérique. En effet, l'oxygène présent dans le substrat est un facteur clé de leur développement, surtout dans des milieux confinés où l'oxygène ambiant est moins disponible (Ahmadou, 2019).

#### **1.3.4.3.4. Potentiel Hydrogène (pH)**

Le pH optimal pour la croissance des moisissures se situe généralement autour de 5. Cependant, la plupart des champignons sont peu sensibles aux variations de pH et peuvent se développer sur une large plage allant de 3 à 8. Certains champignons conoïdaux, en particulier, sont même capables de croître à des pH aussi bas que 2, ce qui témoigne de leur grande adaptabilité (Ahmadou, 2019).

### **1.3.5. Méthodes d'identification des champignons filamenteux**

L'identification des champignons filamenteux se base principalement sur l'examen des caractéristiques morphologiques, tant macroscopiques que microscopiques (Bougnoux *et al.*, 2011). Ces techniques d'identification peuvent être enrichies par une analyse moléculaire (Mouhajir, 2018).

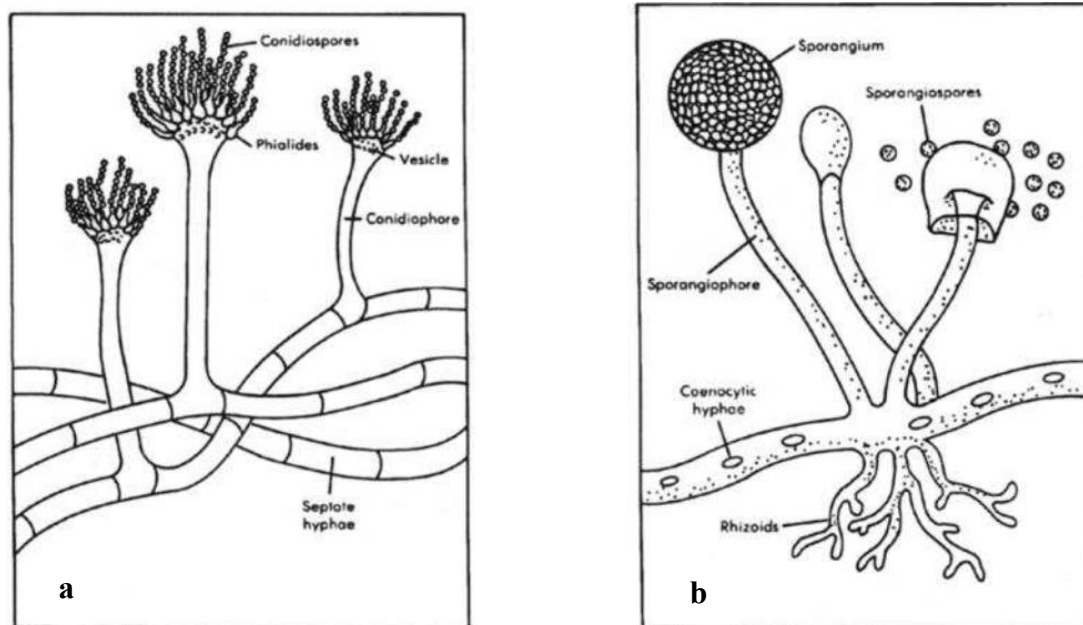
#### **1.3.5.1. Analyse macroscopique**

L'analyse macroscopique des colonies de champignons filamenteux obtenues après culture se base sur plusieurs caractéristiques de l'appareil végétatif. L'aspect peut être duveteux, laineux, cotonneux, velouté, poudreux, granuleux ou lisse. Le relief peut être plat, plissé ou en forme de céréales (cérébriforme). La taille des colonies peut être petite, étendue ou

envahissante. Enfin, la couleur varie du blanc au crème ou peut être teintée de vert, brun, orange, violet, gris, etc. La présence d'un pigment diffusant dans la gélose, ainsi que des paramètres comme la vitesse de croissance des colonies ou la température de développement, peuvent aussi être des indicateurs utiles pour l'identification des moisissures (Zain *et al.*, 2014).

#### 1.3.5.2. Analyse microscopique

Lors de l'analyse microscopique des colonies, plusieurs structures des champignons filamenteux sont observées, telles que l'appareil végétatif, les organes de fructification et les spores. Le thalle végétatif peut être septé, avec un diamètre étroit et régulier de 2 à 5  $\mu\text{m}$ , ou siphonné, avec des filaments peu ou pas ramifiés, d'un diamètre large et irrégulier de 5 à 15  $\mu\text{m}$ . Sa paroi peut être pigmentée (mélanisée) ou non (hyaline). En ce qui concerne les organes de fructification (Figure 5), on observe la présence ou non d'organes protecteurs des conidies, ainsi que les différents modes de formation des conidies : celles-ci peuvent provenir directement du thalle, être solitaires (aleuriospores) ou en chaînes (arthrospores), ou encore produites par bourgeonnement et regroupées en grappes, en masse, en têtes ou en chaînes basipètes ou acropètes. Les cellules conidiogènes peuvent être indifférenciées, peu différenciées ou bien différenciées. Quant aux spores, elles peuvent être endogènes (endospores) ou exogènes (conidiospores ou conidies). Elles présentent différents aspects, tels que les amérospores (unicellulaires et de petite taille), les didymospores (bicellulaires), les phragmospores (pluricellulaires avec des cloisons transversales), les dictyospores (pluricellulaires avec des cloisons transversales et longitudinales) et les scolécospores (étroites et effilées). Enfin, certaines spores peuvent être accompagnées de chlamydospores (Aref & Heded, 2015).



**Figure 5 :** Organes de fructifications du genre *Aspergillus* (a) et du genre *Rhizopus* (b)

### 1.3.5.3. Quelques méthodes moléculaires utilisées pour l'identification des moisissures

L'identification moléculaire est une méthode qui permet de déterminer l'identité d'une espèce en analysant les molécules d'Acide désoxyribonucléique (ADN). Ce processus se déroule en plusieurs étapes (Mouhajir, 2018).

#### 1.3.5.3.1. Extraction d'ADN

L'extraction d'ADN est une méthode visant à isoler l'ADN des cellules ou des tissus. L'application d'une technique d'isolement spécifique doit permettre une extraction efficace, offrant une quantité et une qualité d'ADN suffisantes, pur et exempt de contaminants tels que l'ARN et les protéines. Des solutions préparées en laboratoire, ainsi que des kits commerciaux, sont utilisés pour l'extraction de l'ADN à partir des cellules ou tissus. Ce processus inclut la lyse des cellules et la solubilisation de l'ADN, suivies de méthodes chimiques ou enzymatiques pour éliminer les macromolécules, les lipides, l'ARN et les protéines (Gupta, 2019).

#### 1.3.5.3.2. Réaction en chaîne par la polymérase (PCR)

La PCR (réaction en chaîne par polymérase) est une méthode d'amplification *in vitro* d'une séquence d'ADN spécifique, basée sur des cycles thermiques successifs comprenant trois étapes principales : la dénaturation de l'ADN double brin à des températures variant entre 92 et 95 °C, l'anneau des amorces ou hybridation à des températures comprises entre 50 et 70 °C et l'extension des brins d'ADN à 72 °C (Mullis *et al.*, 1986). Le nombre de cycles, qui peut

varier entre 30 et 40, dépend du programme utilisé. La PCR nécessite plusieurs composants chimiques, dont le  $MgCl_2$ , un tampon à pH 8,3-8,8, les désoxynucléotides triphosphates (dNTP), des amorces spécifiques ou universelles, l'ADN cible et une ADN polymérase thermostable (Gupta, 2019). Il existe plusieurs variantes de la PCR telles que la PCR multiplex, la PCR en temps réel, la PCR nichée ou modifiée, la RT-PCR (PCR à transcriptase inverse), la PCR à démarrage à chaud, la Touchdown PCR, la PCR d'assemblage, la PCR spécifique à la méthylation, ainsi que le test LAMP (amplification isotherme médiée par boucle) (Niemz *et al.*, 2011 ; Gupta, 2019).

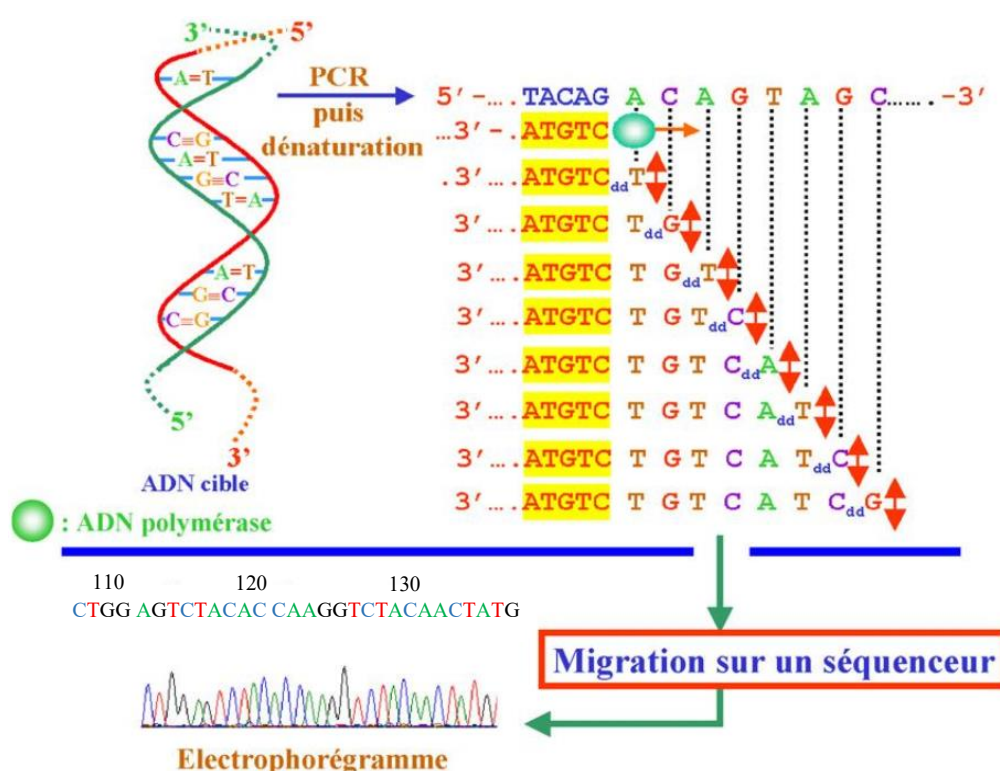
#### 1.3.5.3.3. Séquençage

Le séquençage de l'ADN est une technique permettant de déterminer l'ordre précis des bases A, C, G et T qui composent l'ADN. L'analyse de la séquence de l'ADN offre un moyen d'étudier l'information biologique qu'elle renferme. Étant donné que la structure de l'ADN est unique et spécifique à chaque individu, le séquençage permet diverses applications dans le domaine médical, telles que le diagnostic, les études génétiques, les tests de paternité, la criminologie, la compréhension des mécanismes physiopathologiques, la conception de médicaments et les enquêtes épidémiologiques. Les deux premières méthodes de séquençage de l'ADN sont la technique de Maxam-Gilbert et celle de Sanger, introduite en 1977. Toutefois, la méthode de Sanger demeure aujourd'hui la technique de séquençage la plus utilisée dans les laboratoires (Lamoril *et al.*, 2008).

#### 1.3.5.3.4. Technique de Sanger

Le séquençage de Sanger est une méthode ciblée qui utilise des amorces d'oligonucléotides pour analyser des régions spécifiques de l'ADN (Figure 6). Ce processus débute par la dénaturation de l'ADN bicaténaire, suivi de l'annélation des amorces oligonucléotidiques sur l'ADN monocaténaire. L'élongation de cette séquence se fait à l'aide d'un mélange de désoxynucléotides triphosphates (dNTP), comprenant l'adénine (A), la cytosine (C), la thymine (T) et la guanine (G), nécessaires à la construction de la nouvelle chaîne d'ADN. Une petite quantité de didésoxynucléotides triphosphates (ddNTP) est également ajoutée pour interrompre la chaîne à chaque position spécifique de nucléotides. Les dNTP et ddNTP ont une probabilité égale de se fixer à la séquence, ce qui génère des fragments de différentes longueurs. Chaque ddNTP (ddATP, ddGTP, ddCTP, ddTTP) est marqué par un fluorophore, et l'ajout d'un ddNTP fait briller la base correspondante sous une certaine fluorescence. Par convention, la fluorescence verte est attribuée à l'adénine (A), rouge à la

thymine (T), noire à la guanine (G) et bleue à la cytosine (C). Un laser dans la machine automatisée détecte ces intensités de fluorescence et génère un "pic" pour chaque signal. Si une variation hétérozygote est présente, les deux allèles seront identifiés par deux colorants fluorescents de même intensité. En cas de variant homozygote, la couleur fluorescente attendue sera complètement remplacée par celle correspondant à la nouvelle paire de bases (Gomes & Korf, 2018). Les technologies de séquençage modernes et leurs capacités analytiques ont permis de mettre en évidence les régions ITS1 et ITS4, des outils précieux pour décrire la diversité et la caractérisation des communautés fongiques. Ces régions, situées entre les gènes codant pour l'ARN ribosomal 18S, 5,8S et 28S, présentent une variabilité génétique suffisante pour différencier les différentes espèces de champignons et étudier leur diversité dans des environnements complexes (Valenzuela-González *et al.*, 2015).



**Figure 6** : Principe du séquençage selon la méthode de Sanger (Lamoril *et al.*, 2008)

## 1.4. Métabolites d'origine fongique

### 1.4.1. Métabolites primaires

Les métabolites primaires sont des composés associés ou liés à la synthèse des cellules microbienne, donc de type associé à la croissance. Ils sont synthétisés pendant la phase exponentielle (trophophase). Les voies de biosynthèse sont, en général, simples. Parmi ces

métabolites on trouve des acides aminés, des acides organiques, l'alcool, des vitamines, des polysaccharides, des solvants, des carburants et des lipides (Leghlimi, 2020).

#### **1.4.2. Métabolites secondaires**

Les métabolites secondaires sont des molécules non essentielles au métabolisme basique des champignons. Ces composés sont synthétisés dans des conditions particulières, et s'accumulent pendant la phase suivant la phase exponentielle de croissance ou en idiophase (phase de ralentissement ou en phase stationnaire). Ces produits n'ont pas de relation directe avec la synthèse des matières cellulaires et la croissance normale. Ils sont donc de type non associé à la croissance. On trouve dans ce groupe des antibiotiques, des toxines, des vaccins, des insecticides, des arômes et des colorants (Leghlimi, 2020).

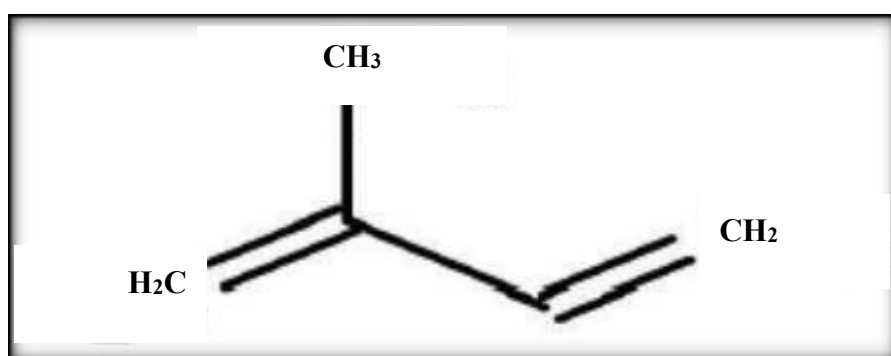
#### **1.4.3. Classification des métabolites secondaires**

Les métabolites secondaires sont classés selon leur structure chimique en quatre groupes majeurs à savoir les composés phénoliques ou aromatiques, les terpénoïdes, les hétérosides et les alcaloïdes. Les composés phénoliques sont une grande classe de substances organiques cycliques très variées (Tableau II) d'origine secondaire qui dérivent du phénol  $C_6H_5OH$  qui est un monohydroxybenzène. Dans la nature, ces composés sont généralement dans un état lié sous forme d'esters ou plus généralement d'hétérosides. Ils existent aussi sous forme de polymères naturels (tanins) (Walton & Brown, 1999). Le groupe le plus vaste et le plus répandu des composés phénoliques est celui des flavonoïdes (Walton & Brown, 1999).

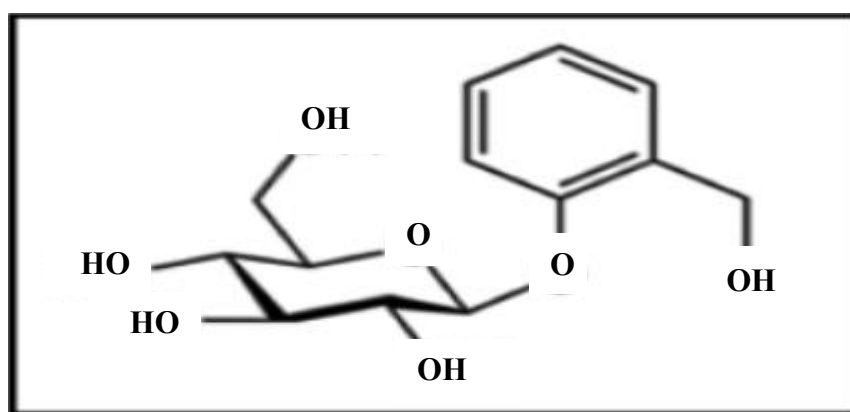
**Tableau II** : Quelques composés phénoliques d'origine secondaire (Walton & Brown, 1999)

| Squelette carbonée                                             | Classes de composés phénoliques                                  |
|----------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|
| C <sub>6</sub>                                                 | Phénols simples et benzoquinones                                 |
| C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>                                 | Acides phénoliques                                               |
| C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>                                 | Acétophénonnes et les acides phenylacétiques                     |
| C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>                                 | Acides hydroxy-cinnamiques, coumarines, phénylpropènes, chromons |
| C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>                                 | Naphthoquinones                                                  |
| C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub>                 | Xanthones                                                        |
| C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>                 | Stilbènes et anthraquinones                                      |
| C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>                 | Flavonoïdes et isoflavonoïdes                                    |
| (C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> ) <sub>2</sub>                 | Tannins hydrolysables                                            |
| (C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>                 | Lignanes et néolignanes                                          |
| (C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>2</sub> | Biflavonoïdes                                                    |
| (C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>n</sub>                 | Lignines                                                         |
| (C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub>                                 | Catéchols                                                        |
| (C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub> | Tannins condensés                                                |

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structures soit cyclique, soit chaîne ouverte. Leur formule brute est (C<sub>5</sub>H<sub>x</sub>)<sub>n</sub> dont **x** : est variable en fonction du degré d'insaturation de la molécule et **n** peut prendre des valeurs allant de 1 à 8 sauf dans les polyterpènes où **n** peut atteindre plus de 100 (le caoutchouc). La molécule de base est l'isoprène de formule C<sub>5</sub>H<sub>8</sub> (Figure 7) (Bezzaz, 2013).

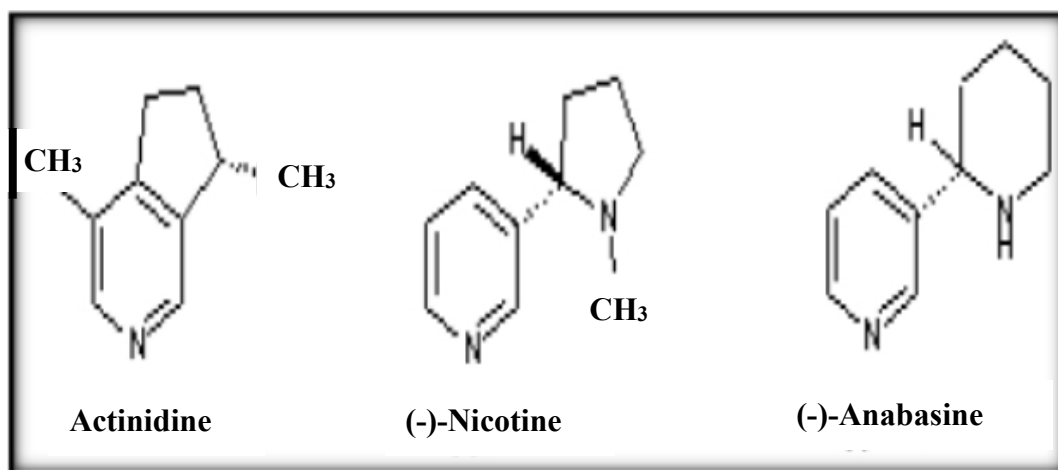
**Figure 7** : Molécule d'isoprène (Bezzaz, 2013)

Les hétérosides ou glycosides sont des molécules formées par combinaison d'oses et de substances non glucidiques appelées aglycones ou génines (Figure 8). Ces métabolites secondaires sont les plus anciennement connus. Ils forment des substances de réserve localisées dans les vacuoles cellulaires. Les hétérosides se différencient entre eux par leurs génines qui appartiennent à tous les groupes de métabolisme secondaire (flavonoïde, saponosides et tanins) et par le mode de liaison entre le génine et l'ose ainsi que par la nature de la partie glucidique. Ils sont classés selon la nature de la liaison en C-, N, O-, S- hétérosides (Hessas & Simoud, 2018).



**Figure 8 :** Molécule de salicyline (exemple des hétérosides) (Hessas & Simoud, 2018)

Les alcaloïdes sont des substances organiques naturelles composés de carbone, d'hydrogène, d'oxygène et d'azote (Figure 9). Ils présentent généralement des structures similaires à celles des amines primaires, secondaires ou tertiaires, ce qui leur confère des propriétés basiques. Ces molécules sont très intéressantes au point de vue biologique car certaines sont le principe actif de plusieurs extraits de plantes anciennement utilisés comme médicaments. Ils existent rarement à l'état libre, mais le plus souvent ils sont combinés à des acides organiques ou à des tanins (Aref & Heded, 2015).



**Figure 9** : Structure de quelques alcaloïdes (Aref & Heded, 2016)

#### 1.4.4. Importances des métabolites secondaires fongiques

Les métabolites secondaires fongiques renferment une grande variété de molécules biochimiques. Ce sont généralement des molécules complexes renfermant des composés à activités biologiques, entre autres antibactériens, antitumoraux, antifongiques, antiviraux, inhibiteurs d'enzymes (Zain *et al.*, 2014). Ces activités biologiques offrent à ces molécules d'intéressantes applications pour l'agriculture dans le but de contrôler des maladies des plantes (Mathivanan *et al.*, 2008). Les métabolites secondaires affectent surtout les agents phytopathogènes comme les champignons, les bactéries et même les virus à cause de leur activité antagonistes (Devi *et al.*, 2020). Par exemple des composés tels que les Xanthonés, les flavonoïdes, les hétérosides et les terpènes jouent un rôle d'armes de compétition utilisées contre d'autres champignons, bactéries, amibes et plantes mais aussi comme des agents de transport de métaux et agents de symbiose entre les microorganismes et les plantes (Zain *et al.*, 2014).

#### 1.4.5. Techniques de caractérisation des métabolites secondaires fongiques

##### 1.4.5.1. Méthodes de production des métabolites secondaires

La production de métabolites secondaires peut être effectuée grâce à l'application de différentes techniques, telles que la fermentation en milieu solide (FMS) et la fermentation en milieu liquide (FML).

#### **1.4.5.1.1. Fermentation en milieu solide (FMS)**

La FMS est une méthode dans laquelle les champignons se développent sur des substrats solides tels que des grains ou des copeaux de bois, produisant ainsi des métabolites secondaires comme les mycotoxines. Cette technique recrée des conditions de croissance naturelles, stimulant la production de composés bioactifs en réponse à des facteurs de stress environnementaux. Elle est particulièrement utilisée pour la production de mycotoxines, reconnues pour leurs propriétés antifongiques et antibactériennes. Moins coûteuse que la fermentation en milieu liquide, la FMS est couramment employée dans diverses applications industrielles, bien qu'elle nécessite un contrôle rigoureux de paramètres tels que l'humidité et la température (Lopez, 1998 ; Try, 2018).

#### **1.4.5.1.2. Fermentation en milieu liquide (FML)**

La FML est une méthode courante et efficace pour produire des métabolites secondaires, où les champignons sont cultivés dans un milieu liquide enrichi en nutriments. Cette méthode permet de contrôler précisément des paramètres comme l'oxygénation, la température et le pH, essentiels à la production de métabolites d'intérêt tels que des antibiotiques et des enzymes. L'utilisation de bioréacteurs optimise ces conditions, offrant ainsi un rendement élevé et une qualité constante des produits. La FML est particulièrement adaptée aux besoins industriels dans des secteurs tels que la pharmacie et l'agroalimentaire (Zerroug, 2021).

#### **1.4.5.2. Techniques d'extraction des métabolites secondaires**

Il existe différentes méthodes d'extraction des métabolites secondaires des champignons, notamment l'extraction par solvant, l'extraction par soxhlet, l'extraction par ultrasons, l'extraction par pression, l'extraction par fluides supercritiques, l'extraction par micro-ondes et l'extraction à l'eau.

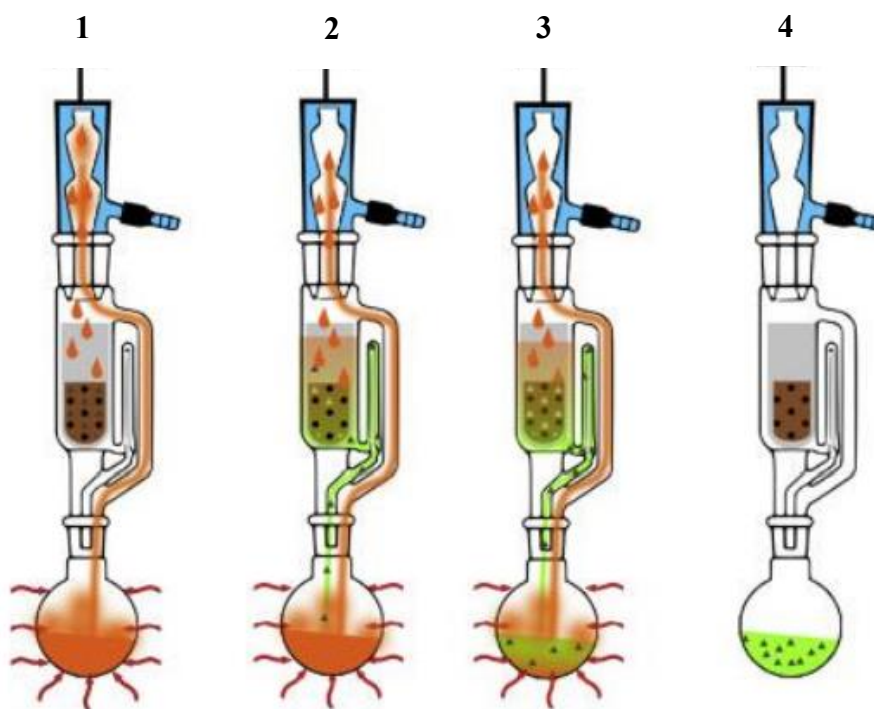
##### **1.4.5.2.1. Extraction par solvant (Méthode de Solvants Organiques)**

L'extraction par solvant consiste à utiliser des solvants organiques tels que l'éthanol, le méthanol, l'acétone, le cyclohexane, l'acétate d'éthyle ou des mélanges d'eau et d'alcool pour dissoudre les métabolites secondaires des champignons. Le matériau biologique, qu'il s'agisse de mycélium ou de fructifications, est haché ou broyé avant d'être mélangé avec le solvant. Cette extraction peut se faire à température ambiante ou à chaud, souvent avec agitation ou macération pendant une période déterminée. Après l'extraction, le solvant est séparé des résidus solides par filtration, puis évaporé sous pression réduite pour récupérer les métabolites

concentrés. Cette méthode est simple, économique et largement utilisée, bien qu'elle puisse entraîner la perte de certains métabolites sensibles à la chaleur ou aux conditions extrêmes (Zerroug, 2018).

#### 1.4.5.2.2. Extraction par Soxhlet

L'extraction par Soxhlet est une méthode d'extraction continue qui utilise un solvant pour extraire efficacement les métabolites secondaires, particulièrement les composés lipophiles (Figure 10). Dans ce procédé, le champignon est placé dans une capsule de Soxhlet et le solvant est chauffé pour s'évaporer et se condenser dans le réacteur. Le solvant imbibe alors le matériau, en extrait les métabolites, puis retourne au réservoir. Une fois le solvant saturé, il est évaporé et récupéré, ce qui permet de répéter l'extraction avec le même solvant. Cette méthode permet une extraction efficace d'une grande quantité de métabolites, mais elle est relativement longue et nécessite un solvant adapté au composé recherché (Ayer *et al.*, 1991 ; Haddouchi *et al.*, 2016).



**Figure 10 :** Dispositif d'extraction par Soxhlet (Haddouchi *et al.*, 2016)

1) La matrice solide est placée dans le dé à coudre. Le solvant est chauffé au reflux ; 2) Condensation et extraction avec le solvant frais. Les solutés sont transférés de la chambre d'extraction au réservoir; 3) Répétition continue de l'extraction; 4) L'extraction exhaustive terminée.

#### 1.4.5.2.3. Extraction par ultrasons (Ultrasound-Assisted Extraction, UAE)

L'extraction assistée par ultrasons utilise des ondes ultrasonores pour améliorer l'efficacité de l'extraction des métabolites secondaires (Figure 11). Les ultrasons génèrent des microbulles dans le solvant, créant des zones de cavitation qui endommagent les parois cellulaires des champignons, ce qui libère les métabolites. En soumettant le mélange de champignons et de solvant à des vibrations ultrasoniques à haute fréquence, l'extraction est accélérée, permettant de récupérer les métabolites plus rapidement. Cette méthode est efficace, rapide, et permet une extraction à température relativement basse, ce qui est idéal pour les composés thermosensibles (Mohammedi, 2019).

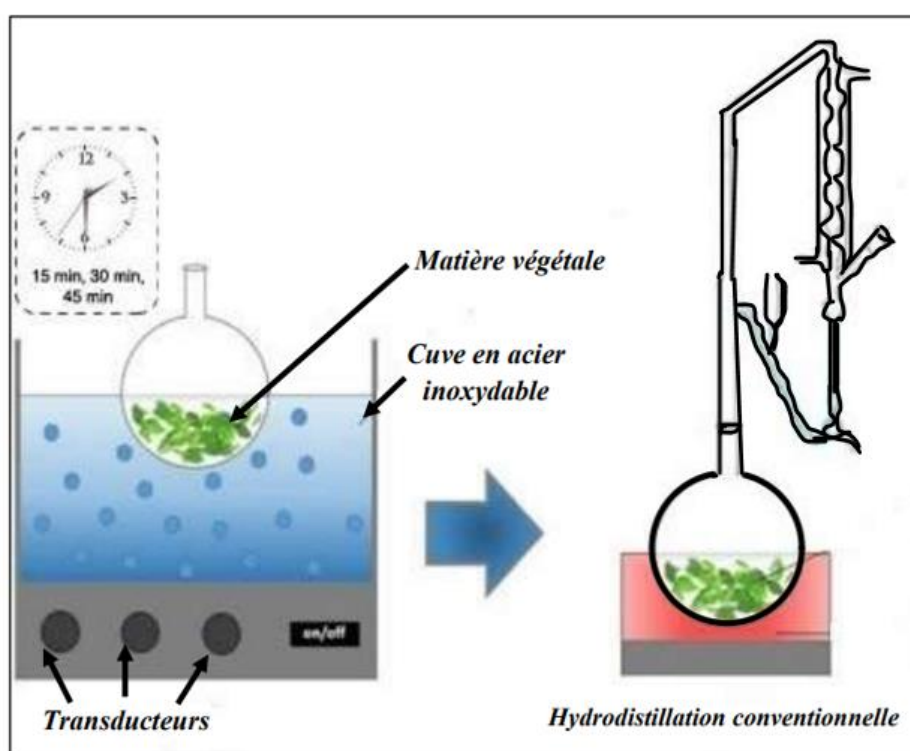
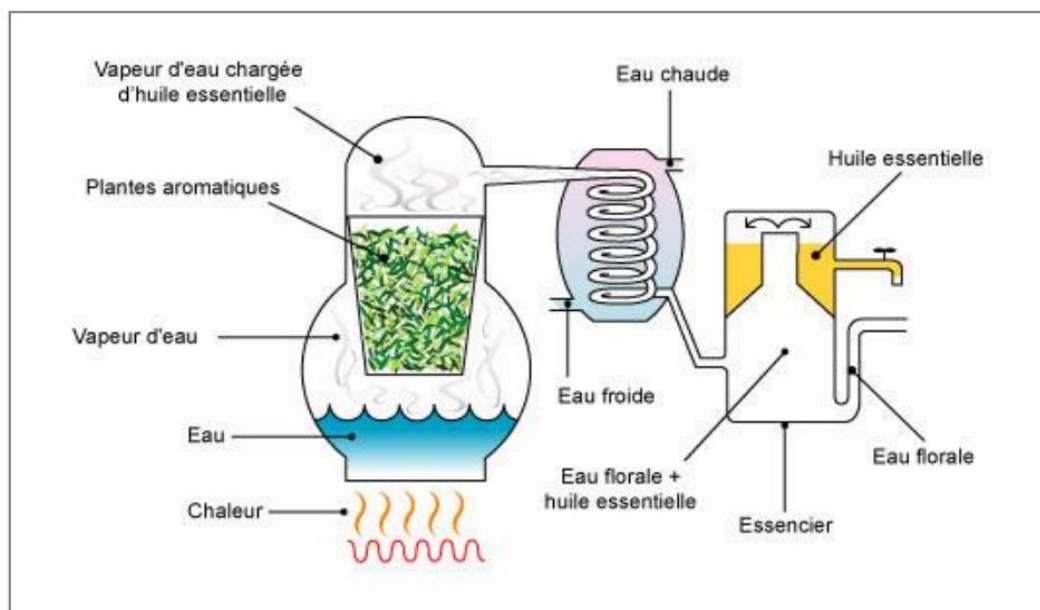


Figure 11 : Dispositif d'extraction par ultrasons (Mohammedi, 2019)

#### 1.4.5.2.4. Extraction par pression (Pressurized Liquid Extraction, PLE)

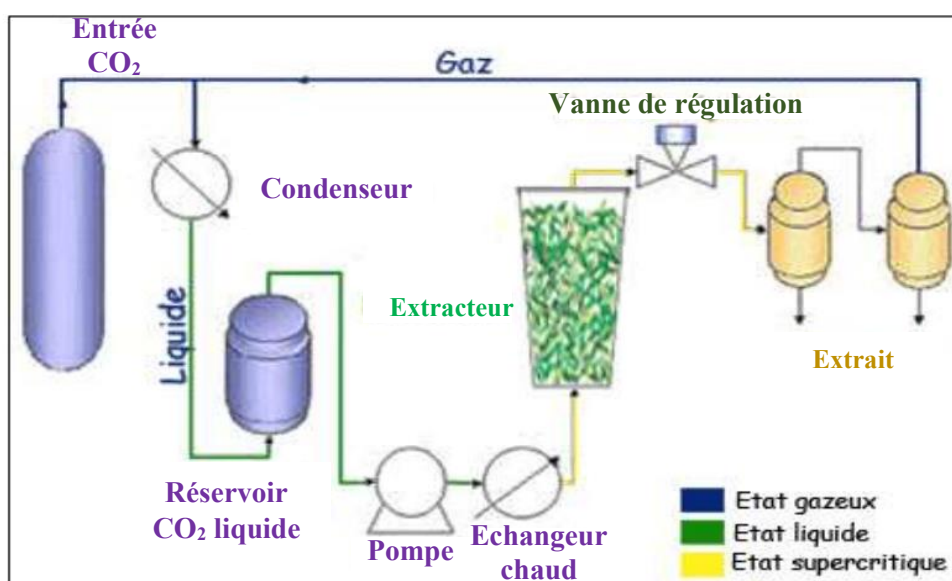
L'extraction par pression utilise un solvant sous haute pression et une température modérée pour extraire les métabolites secondaires (Figure 12). Cette technique est particulièrement adaptée pour des composés difficiles à extraire par des méthodes classiques. Le solvant est pressurisé et chauffé dans un système fermé, ce qui permet de dissoudre les métabolites tout en maintenant une température et une pression optimales. Cette méthode permet une extraction rapide et efficace, avec une meilleure récupération des métabolites, notamment ceux qui sont polaires ou non polaires (Gueribis, 2020).



**Figure 12 :** Dispositif d'extraction par pression (Gueribis, 2020)

#### 1.4.5.2.5. Extraction par fluides supercritiques (Supercritical Fluid Extraction, SFE)

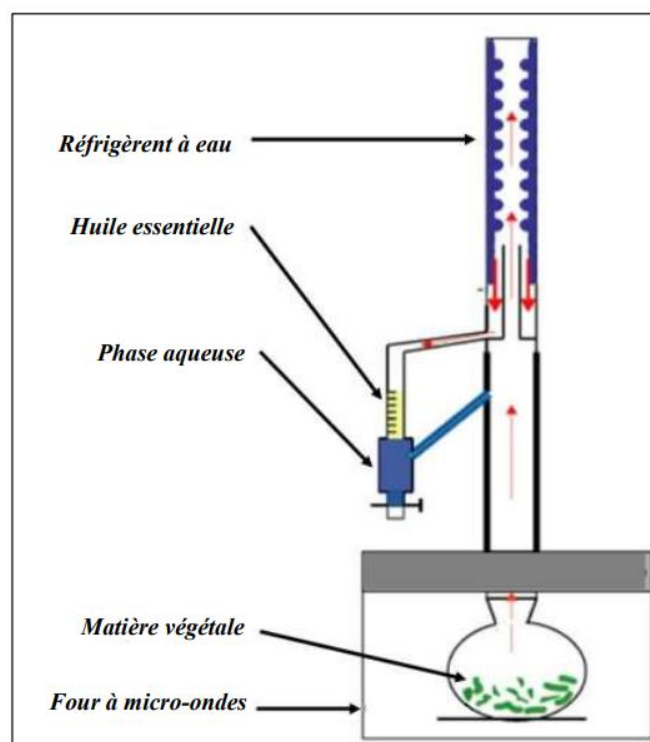
L'extraction par fluides supercritiques utilise un fluide, souvent du dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ), dans un état supercritique pour extraire les métabolites secondaires des champignons (Figure 13). À l'état supercritique, le  $\text{CO}_2$  possède des propriétés particulières qui lui permettent de pénétrer facilement dans la matière et de dissoudre les métabolites lipophiles. Après l'extraction, le  $\text{CO}_2$  est dépressurisé, ce qui permet de séparer les métabolites extraits. Cette méthode est très efficace, non toxique et respectueuse de l'environnement, mais elle nécessite un équipement spécialisé et peut être coûteuse (Mohammedi, 2019).



**Figure 13 :** Dispositif d'extraction au  $\text{CO}_2$  supercritique (Mohammedi, 2019)

#### 1.4.5.2.6. Extraction par micro-ondes (Microwave-Assisted Extraction, MAE)

L'extraction assistée par micro-ondes utilise des ondes électromagnétiques pour chauffer rapidement et uniformément le solvant et le matériau fongique, ce qui accélère l'extraction des métabolites secondaires (Figure 14). Les micro-ondes génèrent une chaleur interne dans le solvant, ce qui aide à briser les structures cellulaires des champignons et libère les composés bioactifs. Cette méthode est rapide, efficace, et nécessite moins de solvant que d'autres techniques, mais elle peut ne pas convenir pour tous les types de métabolites (Boukhari, 2017).



**Figure 14 :** Dispositif d'extraction par micro-ondes (Boukhari, 2017)

#### 1.4.5.2.7. Extraction à l'eau (Hydrolyse ou Infusion)

L'extraction à l'eau est une méthode simple utilisée pour extraire des métabolites hydrosolubles tels que certains alcaloïdes et peptides. Les champignons sont trempés dans de l'eau chaude ou bouillante, ce qui permet de dissoudre les composés solubles dans l'eau. Après un temps d'infusion, le mélange est filtré pour séparer les métabolites extraits des résidus solides. Cette méthode est économique, ne nécessite pas de solvants chimiques et est respectueuse de l'environnement, mais elle n'est efficace que pour les métabolites solubles dans l'eau (Hessas & Simoud, 2018).

### 1.4.5.3. Techniques de séparation des métabolites secondaires

Il existe différentes techniques de séparation des métabolites secondaires, telles que la chromatographie sur colonne, la chromatographie sur couche mince (CCM), la chromatographie liquide à haute performance (HPLC), la chromatographie en phase gazeuse (GC), le fractionnement par solvant, l'électrophorèse, ainsi que la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS).

#### 1.4.5.3.1. Chromatographie sur Colonne

La chromatographie sur colonne est l'une des techniques les plus couramment utilisées pour séparer les métabolites secondaires fongiques. Elle repose sur la séparation des composés en fonction de leur affinité pour une phase stationnaire et une phase mobile. Le mélange extrait est chargé sur une colonne remplie de particules de silice ou d'alumine. Les métabolites sont séparés au fur et à mesure qu'ils migrent à travers la colonne en fonction de leurs propriétés chimiques, telles que leur polarité. Selon la nature des métabolites, différentes méthodes de chromatographie peuvent être utilisées, telles que :

- Chromatographie sur colonne à phase normale (utilisée pour les composés polaires) ;
- Chromatographie sur colonne à phase inverse (pour les composés moins polaires) (Wright *et al.*, 1989 ; Merzouk & Niboucha 2020).

#### 1.4.5.3.2. Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince est une méthode rapide et simple qui permet de séparer les métabolites en fonction de leur polarité. Un film mince de silice ou d'alumine est appliqué sur une plaque. L'échantillon est déposé sur la plaque, et un solvant est utilisé pour faire migrer les métabolites à travers la plaque. Les différents métabolites migrent à des vitesses différentes en fonction de leur affinité pour la phase mobile et la phase stationnaire, ce qui permet leur séparation. Cette technique est couramment utilisée pour des analyses qualitatives et pour obtenir une séparation rapide et préliminaire des composés (Munier, 1968 ; Coussirou, 2023).

#### 1.4.5.3.3. Chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) est une méthode très efficace pour séparer, identifier et quantifier les métabolites secondaires fongiques. Dans ce processus, un échantillon est injecté dans une colonne remplie de matériau adsorbant (comme la silice), et un solvant ou un mélange de solvants (phase mobile) est utilisé pour faire passer l'échantillon

à travers la colonne. Les métabolites sont séparés selon leurs interactions avec la phase stationnaire et la phase mobile. Cette méthode est idéale pour séparer des composés en petites quantités et est largement utilisée pour des métabolites complexes, tels que les alcaloïdes, les acides gras ou les mycotoxines (Cardon *et al.*, 1981 ; Coussirou, 2023).

#### **1.4.5.3.4. Chromatographie en phase gazeuse (GC)**

La chromatographie en phase gazeuse (GC) est principalement utilisée pour séparer les métabolites secondaires volatils, tels que les hydrocarbures, les terpènes ou les alcools. Dans cette technique, l'échantillon est vaporisé et injecté dans une colonne chromatographique où il est séparé en fonction de son interaction avec la phase stationnaire et de sa volatilité. Un gaz porteur, généralement de l'hélium ou de l'azote, transporte les métabolites à travers la colonne. Les composés sont détectés à la sortie de la colonne, souvent par un détecteur à ionisation de flamme (FID) ou un détecteur à spectrométrie de masse (MS). Cette méthode est très utile pour les métabolites volatils et les substances légères (Bouchonnet & Libong, 2004 ; Suffys, 2023).

#### **1.4.5.3.5. Fractionnement par solvant**

Le fractionnement par solvant est une technique qui permet de séparer les métabolites secondaires en fonction de leur solubilité dans divers solvants. Une fois l'extraction effectuée, un mélange d'extraits est séparé en plusieurs fractions en utilisant des solvants de polarité différente. Par exemple, un premier solvant peut être utilisé pour extraire les composés non polaires, tandis qu'un solvant polaire est utilisé pour les métabolites plus solubles dans l'eau. Chaque fraction est ensuite analysée pour identifier les métabolites séparés (Cardon *et al.*, 1981 ; Suffys, 2023).

#### **1.4.5.3.6. Electrophorèse**

L'électrophorèse est une technique qui sépare les métabolites secondaires fongiques sur la base de leur charge et de leur taille en appliquant un champ électrique. Elle est principalement utilisée pour les petites molécules chargées, telles que les acides aminés, les peptides ou certains alcaloïdes. Les molécules migrent à travers un gel ou une matrice sous l'effet du champ électrique, et elles se séparent en fonction de leur charge. Cette méthode est souvent combinée avec des techniques de détection telles que la spectrophotométrie ou la spectrométrie de masse (Wright *et al.*, 1989 ; Suffys, 2023).

#### **1.4.5.3.7. Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS)**

La chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS) est une méthode analytique puissante utilisée pour séparer et analyser les métabolites dans des échantillons complexes. Elle repose sur deux étapes clés : la chromatographie liquide (LC) qui sépare les composés en fonction de leurs interactions avec la phase stationnaire et mobile, et la spectrométrie de masse (MS) qui détecte et caractérise les ions générés à partir des métabolites. Cette technique est particulièrement utile pour l'analyse des métabolites biologiques, la pharmacocinétique, la métabolomique et la recherche de biomarqueurs, offrant une grande sensibilité, précision et capacité à analyser des échantillons complexes (Cheze, 2005 ; Mory, 2020).

#### **1.4.5.4. Méthodes de détermination de la structure des métabolites**

Les méthodes d'identification des métabolites incluent plusieurs techniques analytiques qui permettent de déterminer la structure chimique ou l'identité exacte des composés. La spectrométrie de masse (MS) est l'une des méthodes les plus utilisées, fournissant des informations sur la masse moléculaire et la structure des métabolites (Cheze, 2005 ; Mory, 2020). La résonance magnétique nucléaire (RMN) permet également de déterminer la structure détaillée des molécules en analysant les interactions des noyaux atomiques (Da Silva, 2004). D'autres techniques telles que la spectroscopie UV-Visible et la spectroscopie infrarouge (IR) aident à identifier des groupes fonctionnels présents dans les métabolites (Carpentier, 2016). Pour une identification plus précise après une séparation chromatographique, des approches comme la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) ou la chromatographie liquide haute performance couplée à la spectrométrie de masse (HPLC-MS) sont couramment employées, combinant la séparation des métabolites avec l'analyse de leur structure par spectrométrie de masse. Ces méthodes offrent une identification complète et précise des métabolites dans des échantillons complexes (Carpentier, 2016 ; Mory, 2020).

## 1.5. Lutte biologique en agriculture

### 1.5.1. Définition

Dans le domaine de l'agronomie, la lutte biologique désigne l'utilisation d'organismes vivants pour contrôler la prolifération et/ou les effets nuisibles des ennemis des cultures, tels que les rongeurs, insectes, acariens, nématodes, agents phytopathogènes et mauvaises herbes (Hamlaoui & Benamer, 2018). Cette approche repose sur les interactions naturelles entre individus ou espèces, que l'homme exploite de diverses manières. L'organisme vivant employé comme agent de lutte est considéré comme un « auxiliaire » pour l'homme (Orlici & Benkara, 2018).

Lorsque l'agent antagoniste du ravageur est un animal ou un insecte, on parle de lutte biologique au sens strict ou de lutte par entomophage. Les prédateurs, qui tuent et consomment plusieurs proies durant leur développement, se distinguent des parasitoïdes, des parasites qui vivent aux dépens d'un seul hôte, lequel meurt après le développement du parasitoïde. Il existe des parasites des œufs, des larves et des nymphes. Leurs biologies sont extrêmement variées, et les relations hôte-parasite sont très complexes, impliquant des échanges hormonaux et des messages chimiques interspécifiques par des kairomones (Benmehidi & Boukaabache, 2018).

Lorsque l'organisme antagoniste est un microorganisme, on parle de lutte microbiologique. L'agent antagoniste peut être un champignon, une bactérie, un virus, un protozoaire ou une rickettsie. En général, il infecte l'hôte par ingestion et possède une forme de résistance lui permettant de persister dans le milieu (sol, feuillage, litière). L'agent antagoniste se multiplie dans l'hôte, provoquant sa mort par destruction des tissus, septicémie, ou parfois par émission de substances toxiques (cas des bactéries et champignons). Les cadavres de l'hôte libèrent les agents antagonistes dans l'environnement (Abhilasha *et al.*, 2008).

Lorsque l'organisme antagoniste, une fois introduit par l'homme, peut se développer et se maintenir aux dépens de l'insecte cible ou du pathogène sans nécessiter d'interventions répétées, on parle de lutte biologique par acclimatation. Cela se produit lorsque l'on utilise un entomophage ou un agent antagoniste exotique contre un ravageur introduit ou naturellement arrivé d'une autre région. Si l'acclimatation est réussie et l'efficacité suffisante, la lutte biologique devient autonome. L'auxiliaire devient ainsi un agent permanent et efficace (pendant de nombreuses années) pour la répression du ravageur, et l'effort initial est largement valorisé (Williams & Avakian, 2015).

Dans le cadre de la lutte biologique inondative, l'organisme antagoniste doit être libéré ou inoculé en grande quantité chaque fois que la population du ravageur devient trop élevée. Cela nécessite une maîtrise des techniques de multiplication de l'entomophage (en insectarium) ou des germes antagonistes, ainsi que du conditionnement, du stockage et de l'épandage de ces agents. La qualité du produit doit être maintenue constante. Ces auxiliaires, utilisés pour des applications répétées en agriculture, font l'objet de contrôles stricts pour garantir leur innocuité pour les êtres vivants non cibles. Leur gamme d'hôtes et leurs éventuelles propriétés toxiques ou allergènes sont évaluées. Par sélection et génie génétique, des efforts sont faits pour améliorer ces auxiliaires, en leur conférant par exemple une meilleure résistance aux climats extrêmes, aux insecticides ou aux fongicides (Yang *et al.*, 2015).

La lutte autocide, ou lutte par mâles stériles, est une méthode proche de la lutte biologique. Elle consiste à introduire en grand nombre dans une population naturelle des mâles stériles (de la même espèce) rendus incapables de se reproduire par irradiation, mais conservant leur comportement sexuel. Une fois relâchés, ces mâles stériles entrent en compétition avec les mâles sauvages. Après quelques générations, la population cible est éliminée, grâce à l'introduction continue de mâles stériles (Tang *et al.*, 2013).

### 1.5.2. Historique de la lutte biologique

La lutte biologique a traversé plusieurs phases. Elle a commencé avec la domestication du chat, utilisé pour combattre les rongeurs déprédateurs des denrées stockées, et s'est progressivement étendue avec l'utilisation d'insectes auxiliaires, comme les coccinelles contre les pucerons (Yang *et al.*, 2015).

Au XIX<sup>e</sup> siècle, des animaux comme le porc et les volailles ont été utilisés pour contrôler les ravageurs des forêts et des champs (Tang *et al.*, 2013). Une grande avancée a été réalisée par l'entomologiste Riley en 1868, qui a réussi à réduire les populations de cochenilles nuisibles dans les vergers californiens en introduisant des entomophages, notamment la coccinelle *Rodolia cardinalis* (Williams & Avakian, 2015). Cependant, la généralisation de la lutte biologique a été freinée par un manque de fondements théoriques et de communication entre l'entomologie appliquée et l'écologie fondamentale, encore en développement à l'époque (Williams & Avakian, 2015). Dans les années 1950, Knippling a réalisé la première application de la lutte autocide contre un diptère nuisible au bétail, *Cochlyomyia hominivorax*. Parallèlement, une lutte biologique a été lancée contre le Bombyx disparate, mais les résultats ont été provisoires et la méthode a rencontré des difficultés d'application (Dudek *et al.*, 2016).

L'apparition des insecticides de synthèse pendant la seconde guerre mondiale a marqué une nouvelle phase. Ces produits, efficaces et faciles à utiliser, ont d'abord été appliqués contre les parasites humains, puis contre les ravageurs agricoles. Cependant, les effets secondaires de ces insecticides, tels que la résistance des ravageurs et l'émergence de nouveaux prédateurs, ont ravivé l'intérêt pour la lutte biologique (Abhilasha *et al.*, 2008). La lutte biologique est ainsi devenue un élément clé de la lutte intégrée contre les ravageurs (Weber & Jakobs, 2005).

Dans les années 1970, la lutte biologique s'est développée avec l'utilisation de microorganismes tels que des bactéries, des champignons et des virus pour contrôler les maladies des plantes. Ces microorganismes ont offert des alternatives écologiques aux traitements chimiques, ciblant spécifiquement les pathogènes des plantes. Par exemple, *Pseudomonas fluorescens* et *Bacillus subtilis* ont été utilisées pour lutter contre des maladies bactériennes sur les tomates en France, ainsi que contre des maladies fongiques sur la vigne. Des champignons comme *Trichoderma harzianum* ont été également employés pour contrôler des infections fongiques sur les cultures de blé aux États-Unis (Yang *et al.*, 2015). Cette période a été marquée par la mise en place d'une recherche structurée, notamment à l'Institut de la Recherche Agronomique (IRA) en France, et des collaborations internationales ont permis de développer des solutions plus durables et spécifiques, réduisant ainsi la dépendance aux produits chimiques (Dudek *et al.*, 2016).

### 1.5.3. Intérêt de la lutte biologique

La lutte biologique offre plusieurs avantages clés, notamment son innocuité, sa spécificité, et son acceptabilité sociale potentielle, ce qui la rend particulièrement attractive pour les agriculteurs et les consommateurs préoccupés par l'environnement (Noemie, 2010). Contrairement aux méthodes chimiques, elle empêche le développement de résistances chez les ravageurs, ce qui garantit une efficacité à long terme. De plus, elle s'adapte facilement à diverses cultures et peut même ajouter de la valeur aux produits cultivés, offrant ainsi un bénéfice économique supplémentaire (Meraj & Nandkar, 2012). En plus de ces atouts, la lutte biologique joue un rôle essentiel dans la restauration de la biodiversité au sein des écosystèmes agricoles, contribuant à maintenir un équilibre naturel tout en contrôlant efficacement les maladies phytopathogènes (Hamel, 2016). Elle peut ainsi être utilisée en remplacement d'autres méthodes de lutte, notamment celles fondées sur l'utilisation de produits chimiques, qui représentent un danger pour l'environnement et la santé humaine (Noemie, 2010). En effet, la capacité des agents biologiques à utiliser plusieurs modes d'action et leur adaptabilité à la rhizosphère rendent la lutte biologique non seulement plus durable mais aussi plus respectueuse

de l'environnement par rapport aux traitements chimiques, dont l'efficacité peut diminuer avec le temps et qui entraînent des conséquences négatives sur l'écosystème (Benmehidi & Boukaabache, 2018).

#### 1.5.4. Agents fongiques de lutte biologique

Les agents fongiques jouent un rôle essentiel dans la lutte biologique contre les pathogènes des végétaux. Grâce à leurs capacités à inhiber la croissance des champignons nuisibles et à renforcer la résistance des plantes, ces organismes sont devenus des outils incontournables dans la gestion des maladies des plantes de manière écologique et durable (Bezzaz, 2013). Parmi les agents fongiques les plus utilisés, les genres *Trichoderma*, *Penicillium* et *Talaromyces* se distinguent par leur efficacité à contrôler une large gamme de pathogènes. *Trichoderma*, par exemple, utilise la compétition, la production de métabolites antifongiques et la stimulation des défenses des plantes pour protéger les cultures. *Penicillium*, quant à lui, produit des composés bioactifs qui inhibent la croissance des champignons pathogènes tout en contribuant à la santé du sol. Enfin, bien que moins étudié, le genre *Talaromyces* montre un potentiel prometteur grâce à ses propriétés antimicrobiennes et sa capacité à s'adapter à divers environnements (Benmehidi & Boukaabache ; 2018 ; Afaf, 2020).

#### 1.5.5. Mécanismes d'action d'un agent de lutte biologique

##### 1.5.5.1. Antibiose

L'excrétion des antibiotiques par les microorganismes est un phénomène habituel. L'antibiose est le mode d'action le plus étudié chez les agents de lutte biologique. Elle consiste en la production par l'agent antagoniste d'antibiotiques efficaces contre l'agent pathogène. Il existe certains métabolites capables d'inhiber la croissance des agents phytopathogènes. En revanche, d'autres sont responsables de la perturbation de la perméabilité cellulaire des parasites (Nasraoui, 2008 ; Nasraoui, 2015).

##### 1.5.5.2. Compétition

La compétition entre deux ou plusieurs microorganismes concerne soit l'élément nutritif, l'espace ou les autres facteurs environnementaux qui deviennent limitatifs pour la croissance (Bettou & Righi, 2018). Pour être un compétiteur efficace, un agent antagoniste doit être capable d'utiliser rapidement et efficacement les éléments nutritifs présents en faible concentration sur les organes de la plante (Orlici & Benkara, 2018).

### 1.5.5.3. Parasitisme

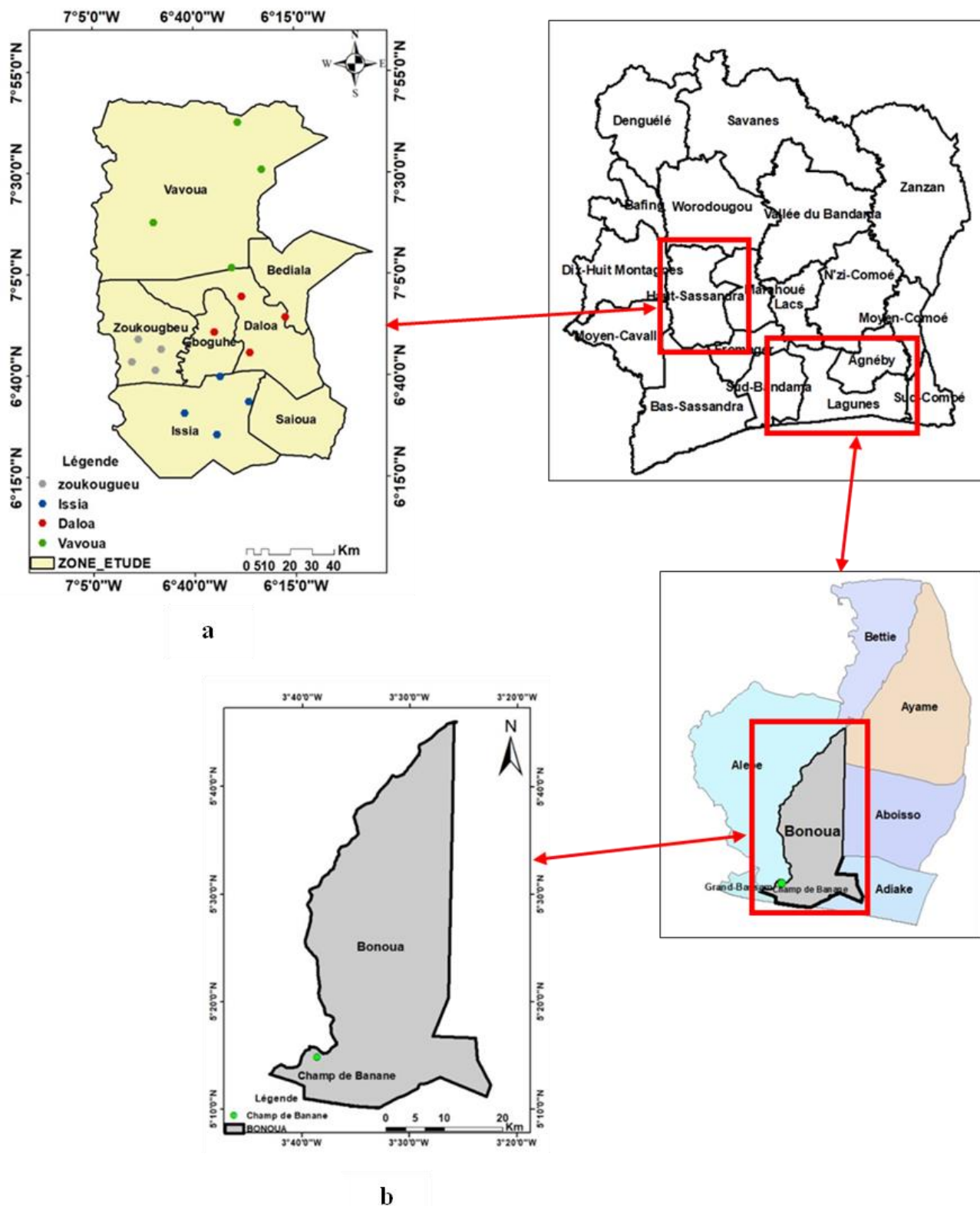
Ce mécanisme consiste à une interaction directe entre deux microorganismes ou les cellules vivantes de l'un constituent une base nutritive pour l'autre. Il implique l'invasion des cellules de l'agent pathogène par le microorganisme antagoniste (Nasraoui, 2008).

### 1.6. Zone d'étude

La présente étude a été réalisée dans la région du Haut-Sassandra (Figure 15a) de coordonnées géographiques 7°00'00'' Nord et 6°30'00'' Ouest et dans le département de Bonoua (15b) de coordonnées géographiques 5°16'17'' Nord et 3°35'40'' Ouest.

Les échantillons de sols rhizosphériques ont été collectés dans la région du Haut-Sassandra, une zone de forte production du plantain, située au Centre-Ouest de la Côte d'Ivoire précisément dans les départements de Daloa, de Vavoua, de Zoukougbeu et d'Issia. La population de la région du Haut-Sassandra est estimée à 1739697 habitants selon le RGPH (2021). Elle représente 5,5 % du territoire national avec une superficie de 17761 Km<sup>2</sup>. Daloa, le chef-lieu se situe à 141 Km de la capitale politique (Yamoussoukro) et à 383 Km de la capitale économique (Abidjan) (Fulgence & Évariste, 2023). Le sol y est de type ferrallitique. La région est couverte par un climat de type tropical à quatre saisons : la grande saison des pluies d'avril à mi-juillet, marquée par des orages, la petite saison sèche de mi-juillet à mi-septembre, la petite saison des pluies de mi-septembre à novembre et la grande saison sèche de décembre à mars (Adjiri *et al.*, 2019).

Les échantillons de feuilles nécrosées de plantain qui ont servi à la recherche et à l'isolement de *Mycosphaerella fijiensis* ont été recueillis dans un champ de banane plantain au Sud-Est de la Côte d'Ivoire, dans la localité de Bonoua où la cercosporiose est endémique (Kassi *et al.*, 2014). La population de la ville de Bonoua est estimée à 118388 habitants selon le RGPH (2021) (Memel, 2023). Elle s'étend sur une superficie de 43 km<sup>2</sup> et est située à environ 60 km à l'Est d'Abidjan. Le sol y est de type ferrallitique et hydromorphes. La ville de Bonoua est couverte par un climat tropical humide à quatre saisons. Il s'agit de la grande saison des pluies qui couvre le mois d'avril à mi-juillet, marquée par des orages. La petite saison sèche commence de mi-juillet et finit à mi-septembre. La petite saison des pluies débute en mi-septembre et se termine en novembre et la grande saison sèche de décembre à mars (Ouattara, 2015).



**Figure 15 :** Cartographie de la zone d'étude (Centre-Ouest (a) et Sud-Est (b), Côte d'Ivoire)

# **DEUXIÈME PARTIE : MATÉRIEL ET MÉTHODES**

## 2.1. Matériel

### 2.1.1. Substrats d'étude

Les substrats utilisés dans les expérimentations étaient constitués d'échantillons de sol rhizosphérique et de feuilles nécrosées de bananiers plantains, respectivement pour la recherche de champignons rhizosphériques et l'isolement des souches de *Mycosphaerella fijiensis* (Figure 16).



**Figure 16** : Substrats d'étude

a : Echantillons de sol rhizosphérique ; b : Feuilles nécrosées de plantain

### 2.1.2. Matériel technique

Le matériel technique utilisé au cours de cette étude était constitué de matériel de terrain, d'équipements techniques de laboratoire, de produits chimiques et consommables de laboratoire (Annexe II).

#### 2.1.2.1. Matériel de terrain

Il a été composé d'un mètre ruban, d'une daba, d'un sécateur, d'une machette, d'un récepteur GPS, d'un cutter, de sachets stomacher et d'une fiche d'enquête. Le récepteur GPS de type GARMIN a permis d'enregistrer les coordonnées géographiques des sites d'échantillonnage. Le sécateur, la daba, la machette et le cutter ont servi au nettoyage des herbes et au prélèvement des échantillons de sol et des feuilles nécrosées. Le mètre ruban a été utilisé pour réaliser les cercles lors de l'échantillonnage. La fiche d'enquête a permis d'interroger les paysans. Les sachets stomacher ont été utilisés pour le conditionnement des échantillons de sol et de feuilles nécrosées.

### **2.1.2.2. Matériel technique et consommables de laboratoire**

L'analyse granulométrique des sols a nécessité plusieurs équipements notamment un tamis à mailles de 2 mm, un cylindre de sédimentation gradué, un dispersant (sodium hexamétaphosphate), une balance de précision, une pipette de laboratoire et un chronomètre.

Le tamis a permis de séparer le sable grossier du sol en retenant les particules de plus de 2 mm. Le cylindre de sédimentation a servi à analyser les particules fines (sable fin, limon et argile) en les séparant par taille et densité. Le dispersant a permis d'éviter l'agglomération des particules fines et assurer leur dispersion homogène. La balance de précision a été utilisée pour peser les fractions récupérées après tamisage et sédimentation. La pipette a permis de prélever des échantillons à différents moments de la sédimentation. Enfin, le chronomètre a servi dans la mesure du temps de sédimentation.

Les analyses microbiologiques ont été réalisées grâce au matériel classique de laboratoire de microbiologie composé de boîtes de Petri, de bocaux, un microscope, un autoclave, une étuve, un bec Bunsen, un bain-marie et une balance à précision. Les boîtes de Petri et les bocaux ont servi respectivement à la culture des microorganismes et à la préparation des milieux de culture. Le microscope a permis l'observation des champignons isolés sur le milieu de culture. La stérilisation des milieux de culture et des instruments a été réalisée à l'aide de l'autoclave. L'étuve et la balance de précision (Denver instrument Germany) ont servi respectivement à l'incubation des cultures fongiques à des températures adéquates et à la réalisation des différentes pesées. Le bain marie a permis la régénération et la dissolution des milieux de culture. Le bec Bunsen a été utilisé pour créer une atmosphère stérile et stériliser les instruments.

Les analyses de biologie moléculaire ont été réalisées grâce à plusieurs équipements spécialisés, tels qu'une balance électronique de marque ADAM®, de tubes Eppendorf, un homogénéisateur, de micropipettes, une centrifugeuse, un spectrophotomètre UV-visible, de plaques de 21 puits, un mini thermocycleur du type minipcr<sup>TM</sup>, une cuve d'électrophorèse, un transilluminateur UV et une caméra numérique CCD noir et blanc équipée du système Smart version 7.3. La balance électronique a permis de peser avec précision les réactifs et échantillons. Les tubes Eppendorf ont servi à contenir les échantillons pendant les étapes de préparation et les réactions. L'homogénéisateur a été utilisé pour homogénéiser les échantillons biologiques, facilitant la libération de l'ADN. Les micropipettes ont permis de prélever avec précision de petites quantités de réactifs ou d'échantillons. La centrifugeuse a servi à séparer les composants cellulaires et isoler l'ADN en fonction de la densité des différentes fractions.

Le spectrophotomètre UV-visible a été utilisé pour mesurer l'absorbance des échantillons, permettant ainsi une quantification précise de l'ADN extrait. Les plaques de 21 puits ont servi à préparer les réactions de PCR. L'amplification de l'ADN cible a été réalisée à l'aide du mini thermocycleur, qui a permis de réaliser les cycles thermiques nécessaires à la PCR. L'électrophorèse a été réalisée dans une cuve d'électrophorèse, permettant de séparer les molécules d'ADN en fonction de leur taille et de leur charge électrique. Les résultats ont été visualisés sous lumière UV grâce au transilluminateur UV, permettant d'observer les bandes d'ADN. Enfin, les images des gels ont été capturées à l'aide de la caméra numérique CCD noir et blanc équipée du système Smart version 7.3.

Les analyses des métabolites ont nécessité l'utilisation de plusieurs matériels spécifiques, tels que les ciseaux, les erlenmeyers, l'agitateur mécanique, le papier Whatman, l'évaporateur rotatif (rotavapor), les tubes à essai, les pipettes en verre et l'ETD MAXIS II©. Les ciseaux ont été utilisés pour découper les cultures fongiques dans les boîtes de Petri avant leur transfert dans les bocal. Les erlenmeyers ont permis de contenir les échantillons et les solvants durant l'extraction. L'agitateur mécanique a assuré un mélange homogène des échantillons et des solvants. Le papier Whatman a été utilisé pour filtrer les extraits afin d'éliminer les impuretés. L'évaporateur rotatif (rotavapor) a servi à éliminer les solvants par évaporation, concentrant ainsi les extraits. Les tubes à essai et les pipettes ont été utilisés pour prélever les extraits concentrés en vue de leur analyse. Enfin, l'ETD MAXIS II©, grâce à la technologie LC-MS, a été employé pour analyser les métabolites extraits.

### **2.1.2.3. Produits chimiques et milieux de culture**

Les milieux de cultures utilisées pour les analyses microbiologiques sont le Sabouraud au Chloramphénicol, le Potato Dextrose Agar (PDA), le riz et le Czapeck-Dox Modified Agar. Le milieu de culture Sabouraud au Chloramphénicol a été utilisé pour l'isolement des champignons (Cantu *et al.*, 2009). Les milieux PDA et riz ont servi à la production des métabolites secondaires des champignons (Try, 2018) et le milieu Czapeck a permis la conservation des isolats fongiques (Botton *et al.*, 1990). Pour les analyses moléculaires, les réactifs CTAB, ARNase A, le master mix, les amorces ITS 1 et ITS 4 et la solution de protéinase K ont servi à l'extraction de l'ADN et à la lyse des protéines de l'ARN et de la paroi cellulaire (Huang *et al.*, 2018). Les amorces spécifiques MF137 et R635 ont permis l'identification de *Mycosphaerella fijiensis* (Johanson, 1995). L'acétate d'éthyle et le cyclohexane ont été employés comme solvants pour l'extraction des métabolites secondaires.

Enfin, le DMSO (diméthylsulfoxyde) a été utilisé pour dissoudre les métabolites secondaires afin de réaliser les tests biologiques (Maachi *et al.*, 2024).

## **2.2. Méthodes**

### **2.2.1. Prospection de la zone d'étude**

La collecte de données s'est déroulée dans quatre départements que sont Daloa, Vavoua, Issia et Zoukougbeu, dans la région du Haut-Sassandra. Elle a débuté par une mission exploratoire qui a été effectuée de mai à juillet 2022. Cette mission a permis de recenser les bananeraies de plus d'un hectare.

### **2.2.2. Réalisation de l'enquête**

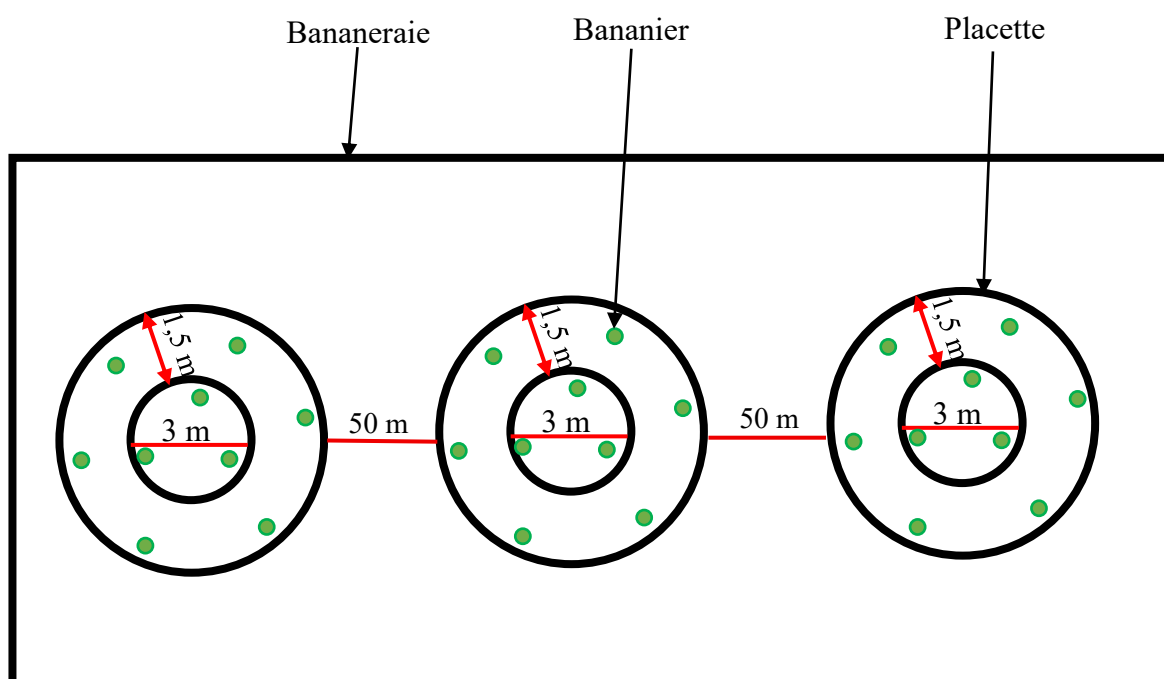
Une enquête a été effectuée pendant le mois de juillet 2022 dans toutes les bananeraies identifiées. Elle avait pour objectif d'identifier les pratiques culturelles du plantain observées dans la zone agroécologique du Haut-Sassandra. Des interviews et des observations directes dans les bananeraies ont été menées. Chaque chef d'exploitation de bananeraie a été soumis à un questionnaire portant de manière générale sur l'identification des exploitations, les différentes variétés de bananiers cultivées et le système cultural. La fiche d'enquête est présentée en Annexe I. Les observations directes ont porté sur l'état des bananeraies et les associations culturales.

### **2.2.3. Echantillonnage de sol rhizosphérique de bananiers**

L'échantillonnage de sol rhizosphérique s'est déroulé pendant le mois d'août 2022 en fin de saison pluvieuse au sein de seize (16) bananeraies couvertes par l'enquête (Figure 15a). Cette activité a été effectuée une semaine après la phase d'enquête selon la méthode des sondages par points et par placettes. En effet, quatre (04) bananeraies de plus d'un hectare ont été sélectionnées par département, dont deux en monocultures et deux en associations culturales. Chacune de ces bananeraies étaient distantes d'au moins 5 km les unes des autres. Trois (03) placettes, distantes d'au moins 50 m, représentées chacune par deux (02) cercles concentriques décroissants de diamètre 6 m et 3 m ont été définies par bananeraie (Figure 17). Les prélèvements, constituant les échantillons de sol rhizosphérique ont été effectués dans un rayon de 0,5 m autour du pied de chaque bananier (Vincent, 2007). La surface du sol a été débarrassée de débris végétaux et animaux à l'aide d'une houe et à une profondeur de 15 à 20 cm, 50 g de sol adhérent aux racines des pieds de plantain ont été prélevés avec une tarière (El-Mrabet *et al.*, 2017). Pour chaque placette, neuf bananiers ont été choisis, dont trois (03) dans le cercle de

3 m et six (06) dans le cercle de 6 m, pour le prélèvement des échantillons élémentaires. Un échantillon composite par placette a ensuite été réalisé par mélange et homogénéisation de l'ensemble des prélèvements d'une placette donnée. Ainsi, au total, 48 échantillons de sol rhizosphérique, chacun pesant environ 450 g, ont été prélevés, conditionnés en sachets stériles et acheminés au laboratoire pour les analyses ultérieures.

Pour les analyses physico-chimiques, un (01) échantillon composite d'environ 100 g a été réalisés par bananeraie après séchage, car dans une bananeraie donnée les propriétés physico-chimiques varient très peu. Au total 16 échantillons composites ont été prélevés et analysés au Laboratoire de Pédologie de l'Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny (INPHB).



**Figure 17 :** Représentation schématique des placettes dans une bananeraie

## **2.2.4. Détermination des propriétés chimiques et physiques des sols des bananeraies**

### **2.2.4.1. Analyse de la qualité chimique des sols**

Les paramètres chimiques, notamment le pH et le taux de matière organique (MO) ont été déterminés. Sur le plan agronomique, ces paramètres servent d'indicateurs de la qualité du sol (Bi-Voko, 2013).

#### 2.2.4.1.1. Détermination du pH

Le  $\text{pH}_{\text{eau}}$  du sol a été déterminé par électrométrie à l'aide d'un pH-mètre, sur une suspension de 20 g de sol dans 50 mL d'eau distillée. Ce rapport sol/eau de 1/2,5 a été choisi, conformément à la norme AFNOR (2005). Le principe de la méthode électrométrique repose sur la mesure de la différence de potentiel électrique (tension) générée par les ions hydrogène ( $\text{H}^+$ ) présents dans une solution. Cette tension est directement proportionnelle à la concentration de ces ions, et un pH-mètre mesure cette différence entre deux électrodes (une électrode de verre sensible aux ions  $\text{H}^+$  et une électrode de référence à potentiel stable) pour afficher la valeur du pH. La plage de solubilité optimale se situe entre 5,5 et 6,5 (Pansu & Gautheyrou, 2006). Selon les normes d'interprétation du pH établies par l'INRA, les classifications des sols sont les suivantes : sols hyper-acides ( $\text{pH} < 3,5$ ), sols très acides ( $3,5 \leq \text{pH} < 5,0$ ), sols acides ( $5,0 \leq \text{pH} < 6,5$ ), sols neutres ( $6,5 \leq \text{pH} < 7,5$ ), sols basiques ( $7,5 \leq \text{pH} < 8,7$ ) et sols très basiques ( $\text{pH} \geq 8,7$ ) (Baize, 2018).

#### 2.2.4.1.2. Détermination de la teneur en matière organique

Les analyses de la matière organique ont porté sur le carbone organique total et l'azote total. Le carbone organique total a été mesuré par voie humide à une température de 120 °C, selon la méthode de Walkley & Black (1934). Pour cette analyse, un échantillon de sol d'environ 10 g a été utilisé. Le carbone organique total a été oxydé à l'aide d'une solution de dichromate de potassium ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ) à 0,1 N, en présence d'environ 50 mL d'acide sulfurique concentré ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ). Au cours du processus d'oxydation, la couleur du dichromate de potassium évolue du vert au jaune, indiquant ainsi la quantité de produits de réduction formés. Après l'oxydation, la quantité de dichromate de potassium non consommé a été titrée avec 50 mL d'une solution de sulfate ferreux ( $\text{FeSO}_4$ ) pour déterminer la quantité restante de dichromate. Le taux du carbone organique total a été ensuite calculé en soustrayant la quantité de dichromate de potassium restant après titration de la quantité initialement ajoutée.

Le taux de matière organique (MO) a été calculé conformément à une convention internationale, avec la formule ci-dessous :

$$\text{MO (\%)} = \text{\%carbone organique} \times 1,724 \quad (2)$$

Les normes d'interprétation pour la matière organique sont présentées dans le Tableau III. L'azote total a été déterminé par la méthode Kjeldahl (1986), qui implique l'attaque à chaud de la matière organique par de l'acide sulfurique ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) concentré, en présence de catalyseurs

(K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, CuSO<sub>4</sub>, sélénium). La solution obtenue est ensuite distillée avec un excès de soude et titrée avec de l'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1 N). Les normes d'interprétation pour l'azote sont les suivantes : sols très pauvres (taux d'azote < 0,05 %), sols pauvres (0,05 % ≤ taux d'azote < 0,1 %), sols moyennement riche (0,1 % ≤ taux d'azote < 0,15 %), sols riches (0,15 % ≤ taux d'azote < 0,25 %) et sols très riches (taux d'azote ≥ 0,25 %) (Calvet & Villemin, 1986). Le rapport C/N, déduit des valeurs de carbone et d'azote totaux, offre des indications précieuses sur l'évolution de la matière organique, l'activité biologique du sol et la conduite de la fumure azotée. Un rapport C/N inférieur à 8 est considéré comme faible (disponibilité rapide de l'azote), un rapport compris entre 8 et 12 comme normal (disponibilité lente et progressive de l'azote) et un rapport supérieur à 12 comme élevé (disponibilité très lente de l'azote) (Gagnard *et al.*, 1988 ; Pansu & Gautheyrou, 2006). Plus le rapport C/N est élevé (> 12), plus l'activité biologique est réduite et la minéralisation est entravée, ce qui indique des conditions anaérobies, une acidité excessive ou une mauvaise qualité des résidus. Toutefois, un rapport C/N élevé est bénéfique à long terme pour créer un humus très stable et améliorer la structure du sol (Calvet & Villemin, 1986). Les normes d'interprétation pour le rapport C/N sont résumés dans le Tableau IV.

**Tableau III** : Normes d'interprétation de la matière organique (Gagnard *et al.*, 1988)

| Taux de matière organique (%) | Interprétation        |
|-------------------------------|-----------------------|
| < 1                           | Sol très pauvre       |
| 1 à 2                         | Sol pauvre            |
| 2 à 4                         | Sol moyennement riche |
| > 4                           | Sol riche             |

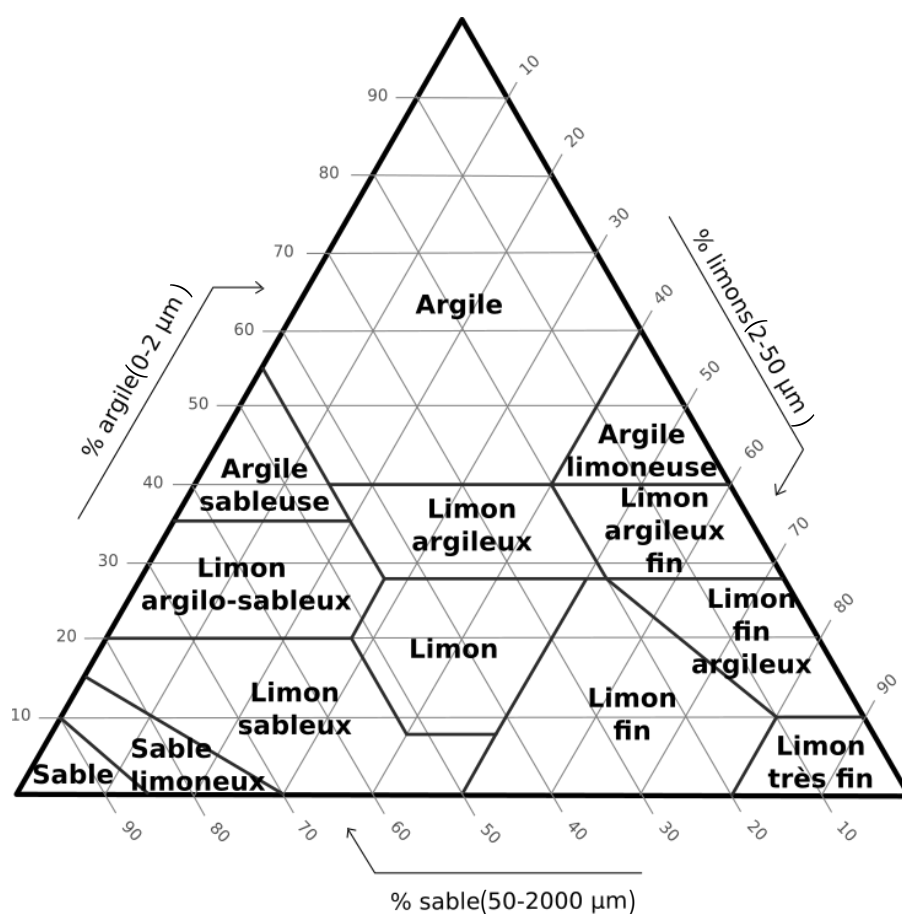
**Tableau IV** : Normes d'interprétation du rapport C/N (Gagnard *et al.*, 1988)

| <6                                           | 6 à 8                                       | 8 à 12 | 12 à 14                                                                          | 14 et plus |
|----------------------------------------------|---------------------------------------------|--------|----------------------------------------------------------------------------------|------------|
| Très faible                                  | Faible                                      | Normal | Elevé                                                                            | Très élevé |
| Décomposition rapide de la matière organique | Bonne décomposition de la matière organique |        | Activité biologique réduite avec une décomposition lente de la matière organique |            |

#### 2.2.4.2. Détermination de la texture des sols

Afin de déterminer la texture des différents sols, la granulométrie a été établie par la méthode [Pipette Robinson] (Dodds & Baluais, 1993). L'analyse granulométrique a pour objectif de classer les particules minérales du sol par catégorie de diamètre. Pour cette analyse,

environ 50 g de sol ont été prélevés et mélangés avec 1 litre d'eau distillée additionnée de 5 g d'hexamétaphosphate de sodium. La suspension a été ensuite versée dans un cylindre gradué de 1 litre et agitée vigoureusement pour assurer une homogénéité parfaite. Après agitation, la suspension a été laissée à sédimenter, et des prélèvements de 10 mL ont été effectués à des intervalles de temps précis à l'aide d'une pipette Robinson. Les échantillons prélevés ont été séchés à 105 °C jusqu'à atteindre une masse constante, puis pesés avec une balance de précision afin de déterminer la proportion des classes de particules selon la norme française NF X31 107 (Baize, 2018). Les textures ont été établies à l'aide du triangle textural USDA (Soil Survey Staff, 1998) (Figure 18).



**Figure 18 :** Triangle des textures (Soil Survey Staff, 1998)

## 2.2.5. Evaluation de la diversité fongique de la rhizosphère des bananiers

### 2.2.5.1. Isolement des champignons

La recherche de la diversité fongique du sol des bananeraies a été réalisée sur le milieu de culture Sabouraud au Chloramphénicol. Le milieu de culture Sabouraud au Chloramphénicol, utilisé dans le cadre de cette étude, a été préparé selon les prescriptions du

fabriquant (Scharlau). Une quantité de 65 g du milieu a été dissoute dans 1 L d'eau distillée stérilisée. Le mélange a été chauffé jusqu'à dissolution complète puis autoclavé à 121°C pendant 15 min.

L'ensemencement a été réalisé selon la technique des grains de terre ou technique des *Soils plates* de Warcup (1950). Cette technique consiste à incorporer directement le sol, préalablement séché et homogénéisé, dans un milieu de culture maintenu en surfusion. Une quantité de 5 à 10 mg de chaque échantillon de sol prélevé par bananeraie a été pesée à l'aide d'une balance de précision (Sartorius CP 225D, AG Allemagne) puis déposée dans une boîte de Petri. Environ 20 mL du milieu Sabouraud au chloramphénicol, préalablement préparé et maintenu en surfusion à 45 à 50 °C, y ont été ajoutés. Le sol pesé, a été immédiatement dispersé dans le milieu de culture en agitant doucement la boîte de Petri. Après solidification, l'incubation a eu lieu à 30 °C pendant 3 à 7 jours. Trois essais ont été réalisés par échantillon de sol.

#### **2.2.5.2. Repiquage des isolats**

Pour obtenir des isolats purs, des observations macroscopiques ont été effectuées. Les isolats morphologiquement différents observés sur les boîtes de Petri ont été prélevés et cultivés individuellement sur le milieu Sabouraud au Chloramphénicol. Les boîtes ont été incubées dans les mêmes conditions qu'à l'isolement (30 °C pendant 3 à 7 jours) (Verscheure *et al.*, 2002).

#### **2.2.5.3. Identification phénotypique des isolats de champignons**

Les isolats purifiés ont été identifiées sur la base de leurs caractères macroscopiques et microscopiques. L'identification macroscopique est basée sur la forme, le relief, la couleur, les caractéristiques de la surface, la pigmentation et le délai de culture des colonies. L'identification microscopique a été réalisée selon la méthode de scotch au grossissement x40. Une goutte de diluant (bleu trypan) a été déposée à l'aide d'une micropipette sur une lame porte-objet. Ensuite, un petit morceau de scotch a été appliqué par la face collante sur la colonie fongique à l'aide d'une pince, puis déposé sur la même lame (Chabasse *et al.*, 2002). Cette identification est basée sur le cloisonnement des hyphes, la présence de clamydospores, la forme et la taille des conidies et des phialides (Verscheure *et al.*, 2002).

#### **2.2.5.4. Conservation des isolats purifiés**

Les isolats purifiés ont été stockés sur la gélose Czapeck coulée en pente. Ensuite, ces isolats ont été conservés au congélateur à -20 °C afin de garder leur viabilité et de limiter les possibilités de variation jusqu'à leur utilisation (Botton *et al.*, 1990).

### 2.2.5.5. Charge fongique des sols rhizosphériques

La charge microbienne des échantillons de sol a été calculée selon l'équation de Chabasse *et al.* (2002) :

$$N(\text{UFC/g}) = \frac{\sum C_i}{0,01N'} \quad (3)$$

-N (UFC/g) : Nombre de germes par gramme de sol ;

-N' : Nombre de boîtes retenues pour le dénombrement ;

-\$\sum C\_i\$ : Somme des colonies comptées sur toutes les boîtes de Petri retenues ;

-0,01 : Masse de sol (g) retenue pour chaque boîte de Petri.

### 2.2.5.6. Diversité des genres fongiques des bananeraies

La diversité fongique des bananeraies a été déterminée à partir des indices de Shannon (H') et d'équitabilité de Pielou (E) selon les formules suivantes :

$$H' \text{ (bits)} = - \sum_{i=1}^S p_i \times \ln(p_i) \quad (4) \quad \text{avec :}$$

- \$p\_i\$ : proportion d'un genre donné (\$p\_i = n\_i/N\$) ;

- \$n\_i\$ : nombre d'individus dénombrés pour un genre donné ;

- \$N\$ : nombre total d'individus dénombrés, tout genre confondu ;

- \$S\$ : nombre total de genres présents.

$$E = \frac{H'}{H_{\max}} \quad (5) \quad \text{avec :}$$

\$H\_{\max} = \ln(S)\$ (entropie maximale possible des genres fongiques).

### 2.2.5.7. Fréquence d'isolement des champignons

Les fréquences d'isolement des champignons ont été déterminées selon la formule de Walder (1996) indiquée ci-dessous :

$$FI (\%) = (NI / NTI) \times 100 \quad (6) \quad \text{avec :}$$

-FI : Fréquence d'Isolement en pourcentage ;

-NI : Nombre d'Isolement d'un genre fongique dans tous les échantillons ;

-NTI : Nombre Total d'Isolement de tous les genres fongiques.

## 2.2.6. Identification moléculaire des potentiels antagonistes et pathogènes du bananier

### 2.2.6.1. Extraction d'ADN génomique

L'extraction d'ADN des moisissures a été réalisée par la méthode utilisant le CTAB (Huang *et al.*, 2018). Elle a débuté par une récupération du mycélium de cultures fongiques âgées de 3 jours. Le mycélium de chacun des isolats a été écrasé dans un mortier stérile en ajoutant de l'eau distillée stérile. Puis un volume de 1,5 mL de chaque solution a été récupéré dans des tubes Eppendorf. Les tubes Eppendorf contenant la solution mycélienne de chacun des isolats ont été soumis à une centrifugation à 10000 tours pendant 5 min pour sédimenter les cellules. Puis, les surnageants ont été éliminés. Un volume de 1,5 mL du tampon de lyse (CTAB1) a été ajouté et homogénéisé à l'aide d'un vortex et incubé à la température de 60 °C pendant 30 min. Ensuite, les enzymes ARNase et protéinase K ont été ajoutés aux suspensions obtenues. Après ajout de ces enzymes, les tubes ont été homogénéisés et incubés à nouveau à la température de 60 °C pendant 30 min. A la fin de cette incubation, les tubes ont été centrifugés à 15000 tours pendant 10 min. Un volume de 900 µL de chacun des surnageants a été transféré dans des nouveaux tubes contenant 900 µL de chloroforme et l'ensemble a été homogénéisé puis centrifugé à 15000 tours/min pendant 15 min. Ainsi, un volume de 650 µL des surnageants obtenus après centrifugation a été transféré dans des nouvelles capsules puis 1300 µL du tampon CTAB2 a été ajouté. Après une heure d'incubation, les tubes ont été centrifugés à 15000 tours/min pendant 15 min. Le tampon CTAB3 et 700 µL du chloroforme ont été ajoutés aux culots obtenus après centrifugation. Les mélanges obtenus ont été homogénéisés pendant 30 s et un volume de 600 µL des phases aqueuses ont été transférés dans des nouveaux tubes contenant un volume de 360 µL d'isopropanol froid (-20 °C). Après une incubation durant 20 min, une centrifugation à 15000 tours pendant 15 min et une élimination des surnageants, 500 µL d'éthanol à 70 % ont été ajoutés aux culots. Les tubes ont été séchés à l'étuve pendant 30 min à 55 °C juste après centrifugation et élimination de l'excès d'alcool. Le marc représentant l'ADN a été mis en suspension dans un volume de 30 µL du tampon de conservation (TE) puis conservé à -20 °C (Kouakou *et al.*, 2022).

### 2.2.6.2. Amplifications des régions spécifiques des gènes par PCR

Les ADN des souches fongiques ont été amplifiés par PCR dans un mélange réactionnel final de 20 µL en utilisant des amorces d'ITS1 (5'TCCGTAGGTGAACCTGCGG3') et d'ITS4 (5'TCCTCCGCTTATTGATATGC3') (Lee *et al.*, 1988).

La composition du mélange réactionnel est indiquée dans le tableau V. Les différents programmes d'amplification du gène se réfèrent à ceux décrits par Mullis *et al.* (1986) comme l'indique le tableau VI.

**Tableau V** : Mix réactionnel de la PCR

| Composant                     | Concentration | Volume (µL) |
|-------------------------------|---------------|-------------|
| Taq DNA polymérase Master mix | 2X            | 10          |
| Amorce forward (ITS1)         | 10 µM         | 1           |
| Amorce reverse (ITS4)         | 10 µM         | 1           |
| Eau ultra pure stérile        |               | 5           |
| ADN cible                     |               | 3           |
| Total                         |               | 20          |

**Tableau VI** : Programme de la réaction de polymérase en chaine (PCR)

| Organismes | Réaction PCR | Dénaturation initiale | 35 cycles    |             |            | Elongation final |
|------------|--------------|-----------------------|--------------|-------------|------------|------------------|
|            |              |                       | Dénaturation | Hybridation | Elongation |                  |
| Fongiques  | ITS          | 94°/300s              | 94°/35s      | 58°/35s     | 72°/60s    | 72°/420s         |

### 2.2.6.3. Electrophorèse des gènes amplifiés

Les produits obtenus après amplification ont été soumis à une migration électrophorétique sur gel d'agarose à 2 %. Les gels d'agarose ont été préparés en utilisant 100 µL du tampon TBE (0,5X) auquel 5 µL de *gel red* ont été ajoutés. Les amplicons ont été homogénéisés dans un volume de 2 µL du bleu de charge. Un volume de 3 µL de marqueur moléculaire d'une taille de 100 pb a été introduit dans le premier puit de chaque gel et les produits de PCR dans les autres puits du gel à raison d'un volume 5 µL.

La migration des produits amplifiés a été effectuée sous une tension de 125 volts pendant 30 min. Après la migration, les bandes ont été visualisées sous lumière UV (Rørvik *et al.*, 2003). La taille de l'amplicon attendue était de 612 pb (Lee *et al.*, 1988).

### 2.2.6.4. Séquençage des gènes et analyses des séquences

Cette étape du travail a été réalisée au Laboratoire de Chimie de l'UMR 7245 MNHN/CNRS à Paris (France). Les amplicons obtenus à l'issue de la PCR ont été analysés à l'aide du séquenceur capillaire ABI3730XL 96 (Thermo Fisher Scientific). Le séquençage des amplicons a été effectué en sens direct et inverse, selon la méthode de Sanger. La visualisation et le nettoyage des chromatogrammes obtenus à partir du séquençage ont permis de générer des

séquences consensus par assemblage directes et inverses sur le logiciel MEGA 11. Les séquences nucléotidiques FASTA générées ont été soumises à une identification en les comparant aux séquences de la base de données de NCBI à travers l'outil BLAST de GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Pour mieux apprécier les zones de similarité entre les différentes espèces, un alignement multiple a été effectué entre les séquences obtenues à travers le logiciel MEGA 11 puis l'arbre phylogénétique a été construit par la méthode de parsimony avec les paramètres par défaut.

## **2.2.7. Recherche de *Mycosphaerella fijiensis*, pathogène foliaire du plantain**

### **2.2.7.1. Echantillonnage des feuilles**

Les échantillons de feuilles nécrosées de plantain qui ont servi à la recherche et à l'isolement de *Mycosphaerella fijiensis* ont été recueillis dans un champ de banane plantain dans le département de Bonoua au Sud-Est de la Côte d'Ivoire où la cercosporiose est endémique (Kassi *et al.*, 2014). A l'aide d'un cutter stérile, 5 feuilles nécrosées de plantain avec des symptômes types de la cercosporiose noire ont été récoltées sur des pieds de plantain. Ces feuilles ont été aussitôt conditionnées chacune dans un sachet stomacher puis transportées au laboratoire pour des analyses ultérieures.

### **2.2.7.2. Recherche de souches de *Mycosphaerella fijiensis***

La recherche de souches de *Mycosphaerella fijiensis* a été réalisée sur le milieu Potato Dextrose Agar (PDA) par la technique de décharge des ascospores sur milieu gélosé selon les méthodes de Carlier *et al.* (2003) et celles de Onautshu, (2013). Autour d'une flamme, des morceaux de 1 mm<sup>2</sup> de feuilles nécrosées ont été découpés avec un cutter stérile puis trempés dans de l'eau distillée stérile pendant 20 minutes afin de les humidifier et nettoyer les deux faces des morceaux de feuille. Ensuite, à l'aide d'une pince stérile, les morceaux de feuille ont été posés sur des boîtes de Petri contenant de l'agar à 3 % préalablement préparé. La face inférieure de la feuille a été dirigée vers le haut, face supérieure en contact avec la gélose. Les boîtes ont été incubées à 30 °C pendant 24 heures. Le repiquage des ascospores présomptifs de *Mycosphaerella fijiensis* a été réalisé grâce à l'observation au microscope au grossissement x40, en récupérant soigneusement, une à une, les ascospores déchargées à l'aide d'une aiguille stérile. Ainsi, les ascospores déchargées sur l'agar ont été repiquées individuellement sur le milieu PDA et réincubées à 30 °C. Quatre à huit jours après ensemencement, les différents isolats fongiques issus des isolements primaires ont été repiqués séparément sur de nouveaux milieux PDA. A l'issue de 45 jours, des souches pures et individualisées ont été obtenues.

### 2.2.7.3. Identification des isolats de *Mycosphaerella fijiensis*

La caractérisation des isolats a été faite sur base d'observations phénotypiques et d'analyses moléculaires. Les caractéristiques phénotypiques, à savoir la coloration, la forme, l'aspect du mycélium et la vitesse de croissance des souches ( $V = \text{Diamètre moyen (mm) / Temps (jours)}$ ) sur milieu PDA ont été observées. L'observation microscopique a été effectuée de la même manière qu'avec les champignons rhizosphériques (Carlier *et al.*, 2003). La caractérisation moléculaire a porté sur l'amplification par PCR des régions « Internal Transcribed Spacers » (ITS) avec les amorces universelles ITS1 et ITS4 d'une part et d'autre part du gène 5,8 S de l'ADN ribosomal avec les amorces MF137 de *M. fijiensis* et R635 qui a servi d'amorce inverse (Lee *et al.*, 1988 ; Johanson, 1995).

### 2.2.8. Recherche de champignons antagonistes des pathogènes du bananier

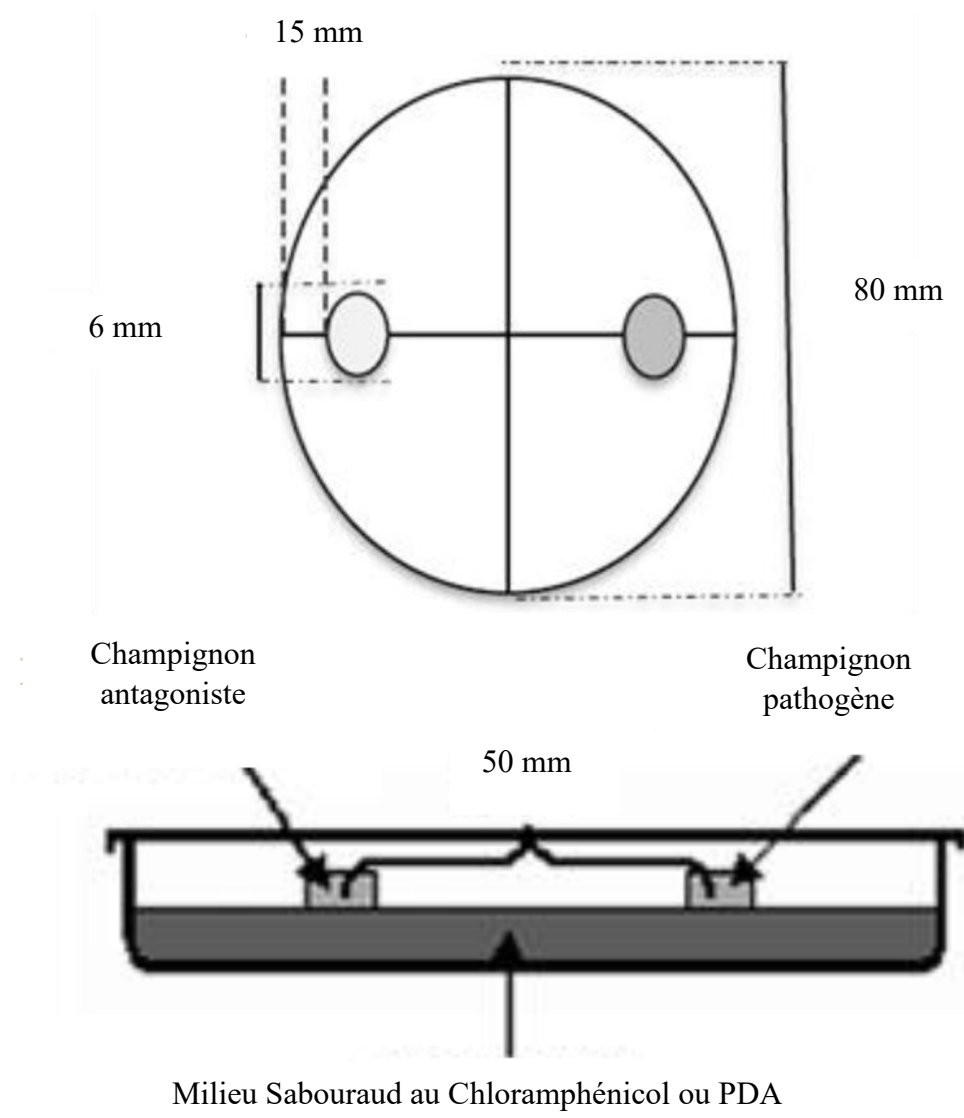
#### 2.2.8.1. Recherche de champignons antagonistes de *Fusarium falciforme*, *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus spinosus*

L'activité antifongique des champignons isolés des échantillons de sol a été évaluée *in vitro* selon la méthode de Meraj & Nandkar (2012) (Figure 19). Cette méthode consiste en des confrontations par contact direct sur milieu de culture des isolats des souches antagonistes avec des souches d'agent pathogène. Ainsi, dans des boîtes de Petri de 8 cm de diamètre contenant environ 20 mL du milieu Sabouraud au chloramphénicol, des explants mycéliens de 6 mm de diamètre provenant de culture de champignons pathogènes et de potentiels antagonistes ont été déposés sur un même axe à équidistance du centre de la boîte de Pétri. La distance qui sépare les deux explants est de 5 cm. Les boîtes de Petri ont été incubées à 30 °C durant 7 jours. Le témoin est constitué de la boîte de Petri ensemencée avec le pathogène uniquement. A partir du 3<sup>ème</sup> jusqu'au 7<sup>ème</sup> jour, la croissance radiale des souches pathogènes a été quotidiennement mesurée. Trois répétitions ont été effectuées pour chaque couple pathogène-potentiels antagoniste. Le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne a été calculé selon la formule de Hmouni *et al.* (1996) ci-dessous :

$$I (\%) = (C_0 - C_n / C_0) \times 100 \quad (7) \quad \text{avec :}$$

- I (%) est le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne ;
- $C_n$  est le diamètre moyen des colonies en présence de l'antagonisme ;
- $C_0$  est le diamètre moyen des colonies témoins.

Un pourcentage d'inhibition supérieur à 45 % est significatif (Hmouni *et al.*, 1996).



**Figure 19 :** Représentation schématique de la technique de la confrontation directe (Meraj & Nandkar, 2012)

#### 2.2.8.2. Recherche de champignons antagonistes du pathogène spécifique *Mycosphaerella fijiensis*

Des cultures de confrontations par contact direct sur milieu PDA ont été réalisées selon la méthode décrite par Meraj & Nandkar (2012) avec quelques modifications entre une souche de *Mycosphaerella fijiensis* et des souches isolées de la rhizosphère du bananier pouvant être des agents de biocontrôle selon la littérature. Ces potentiels agents de biocontrôle ont été mis en culture quinze (15) jours après la culture du pathogène à cause de la lenteur de croissance de *Mycosphaerella fijiensis*. Les boîtes de Petri ont été incubées à 30 °C durant 45 jours. Le témoin était constitué des boîtes de Petri ensemencées avec le pathogène uniquement.

A partir du 15<sup>ème</sup> jusqu'au 45<sup>ème</sup> jour, la croissance radiale de la souche pathogène a été mesurée à intervalle de 5 jours. Trois (03) répétitions ont été effectuées pour chaque couple pathogène-antagoniste. Le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne a été calculé selon la formule de Hmouni *et al.* (1996) ci-dessous :

$$I (\%) = (C_0 - C_n / C_0) \times 100 \quad (7) \quad \text{avec :}$$

- I (%) est le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne ;
- C<sub>n</sub> est le diamètre moyen des colonies en présence de l'antagonisme ;
- C<sub>0</sub> est le diamètre moyen des colonies témoins.

Un pourcentage d'inhibition supérieur à 45 % est significatif (Hmouni *et al.*, 1996).

## 2.2.9. Mise en évidence de composés biologiquement actifs des champignons antagonistes

### 2.2.9.1. Recherche des composés actifs (métabolites secondaires) des champignons antagonistes

La recherche des composés actifs des champignons a été réalisée sur le milieu PDA selon la technique de Lopez (1998) avec quelques modifications. Des explants mycéliens provenant de culture de champignons antagonistes âgés de 7 jours ont été repiqués sur le milieu gélosé PDA. Les boîtes de Petri ont été par la suite incubées dans une étuve à 30 °C. Après deux semaines d'incubation, les métabolites secondaires produits par les champignons sur le milieu PDA ont été extraits par macération dans l'acétate d'éthyle. Pour l'extraction, les milieux ensemencés, découpés en fines tranches ont été introduits dans des erlenmeyers auxquels de l'acétate d'éthyle a été ajouté. Les cultures ont macéré pendant 24 heures sous agitation à l'aide d'un barreau aimanté à température ambiante. Après macération, la solution obtenue a été filtrée sur du coton hydrophile puis 2 fois sur du papier whatman, et le filtrat a été récupéré. L'extrait brut de métabolites a été obtenu par évaporation du solvant à l'évaporateur rotatif à 40 °C avec une rotation de 160 tours par minute.

### 2.2.9.2. Détermination de la structure des métabolites

Les métabolites secondaires issus des cultures fongiques ont été analysés par chromatographie liquide à haute performance (U-HPLC) couplée à une spectrométrie de masse (MS) (Alex *et al.*, 2018). Les expériences de LC/MS ont été effectuées au laboratoire de chimie de l'UMR 7245 MNHN/CNRS à Paris en France. Les extraits fongiques ont été dissous dans

du méthanol, à partir duquel une concentration de 1 mg/mL a été réalisée pour chaque échantillon. Ensuite, 20 µL de chaque extrait préparé ont été injectés dans le système de chromatographie liquide (LC) pour séparer les métabolites. La séparation des composés a été effectuée sur un appareil ETD MAXIS II ©, utilisant une colonne C18 (Acclaim Polar Advantage II PA2, ThermoScientific), maintenue à 40°C. La phase mobile, constituée de CH<sub>3</sub>CN:H<sub>2</sub>O (acidifiée avec 0,1 % d'acide formique), a été utilisée selon un programme de gradients. Elle a débuté avec un rapport de 5:95 pendant 2 minutes, puis a été augmenté à 50:50 pendant 7 minutes, suivi d'un passage à 90:10 sur une durée de 6 minutes. Cette proportion a été maintenue pendant 2 minutes avant de revenir aux conditions initiales en 4 minutes. Ce gradient a permis une séparation optimale des métabolites présents dans les extraits fongiques. Les fractions séparées par LC ont ensuite été introduites dans le spectromètre de masse pour une analyse détaillée des métabolites. L'ionisation des composés a été réalisée par électrospray (ESI) en mode positif, afin de favoriser l'ionisation des métabolites. Le spectromètre de masse a fonctionné sous une tension de 3500 V sur une plage m/z allant de 100 à 1300, permettant ainsi la détection de composés de tailles et masses variées à une vitesse d'acquisition de 2 Hz. Le mode MS a été utilisé pour obtenir un spectre de masse brut, tandis que le mode MS/MS a permis la fragmentation des ions et la génération de spectres de fragmentation, facilitant ainsi l'identification structurale des métabolites. Les spectres obtenus ont été analysés par le logiciel Compass DataAnalysis 4.3.

## **2.2.10. Recherche de composés actifs contre *Fusarium falciforme* et *Mycosphaerella fijiensis***

### **2.2.10.1. Production des métabolites secondaires des champignons antagonistes**

Une suspension de spores a été réalisée à partir d'une culture de champignon antagoniste des pathogènes âgée de 7 jours avec de l'eau distillée stérile. Un volume de 2 mL de cette suspension a été aspergé sur des milieux riz stériles (200 g de riz) contenus dans des erlenmeyers de 1000 mL. Les erlenmeyers ont été par la suite incubés dans une étuve à 30°C. Après trois semaines d'incubation, les métabolites secondaires produits par les champignons sur le milieu riz ont été extraits par macération dans un mélange de 250 mL d'acétate d'éthyle et de 250 mL de cyclohexane. La macération a été faite pendant 24 heures sous agitation à température ambiante. Après macération, la solution obtenue a été filtrée sur du coton hydrophile puis 2 fois sur du papier whatman, et le filtrat a été récupéré. L'extrait brut a été par la suite obtenu par évaporation des solvants à l'évaporateur rotatif à 45 °C avec une rotation de 160 tours par minute (Lopez, 1998).

### 2.2.10.2. Evaluation de l'activité biologique des métabolites des champignons antagonistes sur des pathogènes fongiques du plantin

Pour chaque extrait brut, une gamme de concentration allant de 2,5 à 10 mg/mL a été réalisée par la méthode de dilution au demi avec du diméthylsulfoxyde (DMSO) 100 %. Ensuite, 100 µL de chaque concentration ont été étalés sur le milieu PDA contenu dans des boîtes de Petri stériles de 8 cm de diamètre. Les milieux supplémentés d'extrait brut ont été ensemencés par un explant mycélien de chaque pathogène âgé de 15 jours (*Mycosphaerella fijiensis*) ou de 7 jours (*Fusarium falciforme*). Les témoins sont constitués des boîtes de Petri supplémentées uniquement avec du DMSO 100 %. Les boîtes de Pétri ont été incubées dans une étuve à 30°C. Après 14 jours d'incubation, la croissance radiale de *Mycosphaerella fijiensis* sur chaque extrait a été mesurée ; et après 6 jours d'incubation la croissance radiale de *Fusarium falciforme* sur chaque extrait a été mesurée. Deux (02) répétitions ont été effectuées pour chaque extrait brut et pour chaque concentration. Le pourcentage d'inhibition de la croissance des pathogènes a été exprimé selon la formule décrite par Hmouni *et al.* (1996) ci-dessous :

$$I (\%) = (C_0 - C_n / C_0) \times 100 \quad (7) \text{ avec :}$$

-I (%) est le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne des pathogènes ;

-C<sub>n</sub> est le diamètre moyen des colonies en présence de l'antagonisme ;

-C<sub>0</sub> est le diamètre moyen des colonies témoins.

Un pourcentage d'inhibition supérieur à 45 % est significatif (Hmouni *et al.*, 1996).

Lorsque pour une concentration donnée, il n'y a aucune croissance mycélienne observée, un nouvel ensemencement est réalisé sur une nouvelle boîte de Petri à partir du point de repiquage de la boîte où il n'a été constaté aucune croissance. Une reprise de la croissance traduit un effet fongistatique et l'absence de croissance un effet fongicide. Ainsi, trois paramètres antifongiques ont été recherchés :

- CI50 (concentration qui induit 50 % d'inhibition), une interpolation linéaire a été effectuée entre deux concentrations disponibles (C1 et C2) et leurs pourcentages d'inhibition correspondants (I1 et I2) comme indiquée sur la formule suivante (Clémentine *et al.*, 2019) :

$$CI50 = C_1 + \left( \frac{50 - I_1}{I_2 - I_1} \right) \times (C_2 - C_1) \quad (8)$$

- CMI (concentration minimale inhibitrice) : c'est la plus petite concentration d'extrait pour laquelle il n'y a aucune croissance visible à l'œil nu ;
- CMF (concentration minimale fongicide) : c'est la plus petite concentration d'extrait pour laquelle il est observé un effet fongicide.

### 2.2.11. Analyses statistiques

Les données collectées au cours de l'enquête ont été saisies et analysées à l'aide du logiciel Sphinx. Celles recueillies au laboratoire ont été analysées à l'aide du logiciel R-Studio version 4.4.1. Une analyse de variance a été effectuée à travers un modèle linéaire généralisé (GLM) pour comparer les pourcentages d'inhibition de la croissance mycélienne des pathogènes (*Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus spinosus*, *Mycosphaerella fijiensis* et *Fusarium falciforme*) par les souches antagonistes. Cette analyse a également permis de comparer l'effet des extraits des différentes souches antagonistes à chaque concentration sur la croissance de *Mycosphaerella fijiensis* et de *Fusarium falciforme*. Le choix du modèle linéaire généralisé (GLM) s'explique par le non-respect des conditions de normalité et d'homogénéité des variances nécessaires à l'application directe de l'analyse de variance (ANOVA). Le GLM permet de modéliser des variables continues et proportionnelles tout en ajustant la distribution des erreurs pour mieux correspondre à la nature des données. Étant donné que la variable étudiée (pourcentage d'inhibition) suit une distribution strictement positive, une fonction de lien "logit" et une distribution "quasi-binomiale" ont été choisies, adaptées aux données exprimées en pourcentage (de 0 à 100). Une analyse de variance, couplée au test de  $\chi^2$ , a ensuite permis d'évaluer la significativité des effets observés pour chaque variable (extrait et concentration) et leur interaction. Par ailleurs, les teneurs des propriétés physico-chimiques des sols ont été comparées en fonction du système cultural et du département à travers un modèle linéaire généralisé avec la fonction de lien "gaussien". L'analyse de redondance (RDA) a été utilisée pour établir les relations entre ces propriétés physico-chimiques et les genres fongiques. Enfin, une analyse factorielle des correspondances (AFC) a permis de relier les systèmes culturels aux genres fongiques identifiés.

# **TROISIÈME PARTIE : RÉSULTATS ET DISCUSSION**

### 3.1. Résultats

#### 3.1.1. Typologie des bananeraies de la zone agroécologique du Haut-Sassandra (Centre-Ouest, Côte d'Ivoire)

##### 3.1.1.1. Répartition des bananeraies de plus d'un hectare de la région du Haut-Sassandra

Le recensement des bananeraies mené dans la région du Haut-Sassandra a permis d'identifier 34 plantations de plus d'un hectare dont treize (13) dans le département de Daloa, quatre (4) dans le département de Vavoua, dix (10) dans le département de Zoukougbeu et sept (7) dans le département d'Issia. La majorité de ces bananeraies ont donc été répertoriées dans les départements de Daloa et de Zoukougbeu. Le nombre de bananeraie par département est présenté dans le tableau VII.

**Tableau VII** : Nombre de bananeraies de plus d'un hectare de la Région du Haut-Sassandra

| Départements          | Daloa | Vavoua | Zoukougbeu | Issia |
|-----------------------|-------|--------|------------|-------|
| Nombre de bananeraies | 13    | 4      | 10         | 7     |

##### 3.1.1.2. Chefs d'exploitation du plantain dans la région du Haut-Sassandra

La culture du plantain dans la région du Haut-Sassandra est à majorité pratiquée par des ivoiriens. La plupart des planteurs sont des hommes de plus de 18 ans. Seulement 35 % des producteurs de plantains n'ont jamais été à l'école. Plus de 55 % des paysans possèdent 2 à 4 plantations et utilisent le même matériel d'entretien pour l'ensemble de leurs bananeraies. Tous les agriculteurs (100 %) pratiquent la culture du plantain à la fois pour l'alimentation familiale et à but lucratif. Les caractéristiques du profil des producteurs du plantain dans le Haut-Sassandra sont résumés dans le tableau VIII.

**Tableau VIII:** Profil des chefs d'exploitation des bananeraies

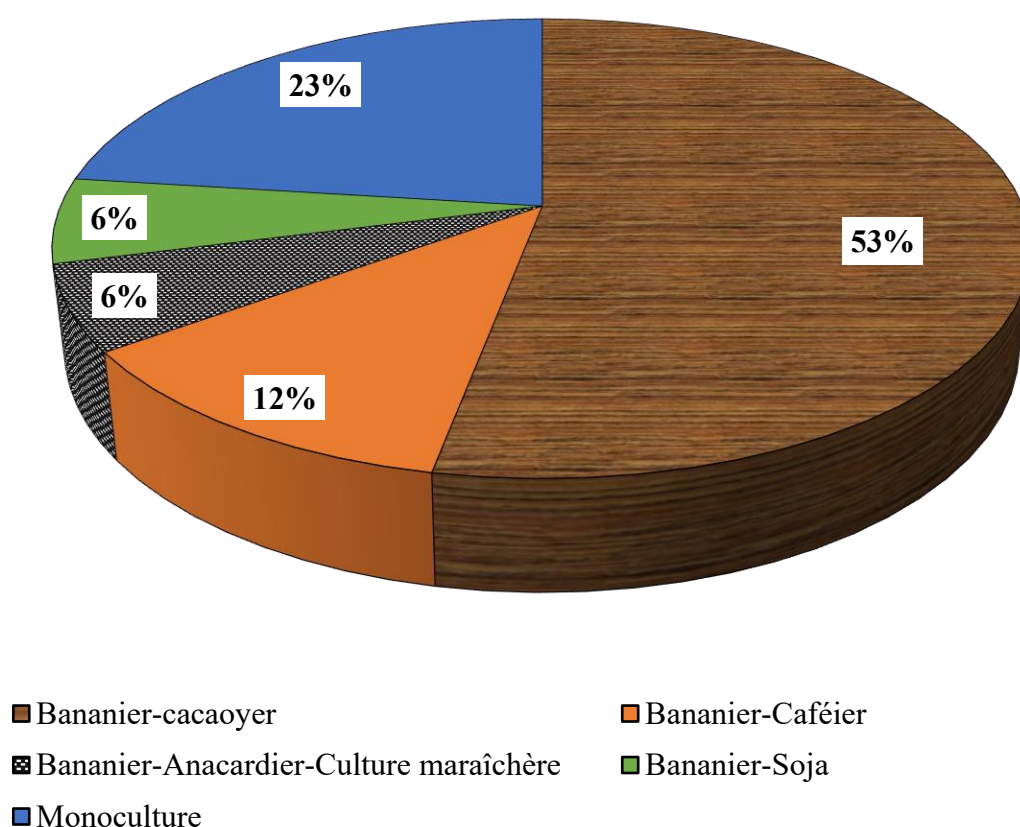
| Profils des producteurs            |                            | Nombre de bananeraies | Fréquence (%) |
|------------------------------------|----------------------------|-----------------------|---------------|
| Nationalité                        | Ivoirienne                 | 30                    | 88,20         |
|                                    | Autres                     | 4                     | 11,80         |
| Genre                              | Masculin                   | 30                    | 88,20         |
|                                    | Féminin                    | 4                     | 11,80         |
| Age (ans)                          | < 18                       | 0                     | 0,00          |
|                                    | De [18 à 45[               | 24                    | 70,60         |
|                                    | [45 et plus [              | 10                    | 29,40         |
| Niveau d'étude                     | Aucun                      | 12                    | 35,30         |
|                                    | Primaire                   | 10                    | 29,40         |
|                                    | Secondaire                 | 11                    | 32,40         |
|                                    | Supérieur                  | 1                     | 2,90          |
| Type d'activité                    | Principale                 | 27                    | 79,4          |
|                                    | Secondaire                 | 7                     | 20,6          |
| Nombre de bananeraies par planteur | < 2                        | 15                    | 44,1          |
|                                    | [2 à 4]                    | 19                    | 55,9          |
| But de la production               | À but lucratif et familial | 34                    | 100           |

### 3.1.13. Pratiques culturelles observées dans les bananeraies

La culture du plantain dans la région du Haut-Sassandra est dominée par l'association culturale (77 %). Le bananier est cultivé en association avec le cacaoyer dans 53 % des cas, le caféier à 12 %, le soja dans 6 % des cas ainsi que les anacardiés et les cultures maraîchères à 6 % (Figure 20). Les plantations de bananiers sont mises en place après coupe et brûlis. La provenance et la qualité de la semence (rejets) ne sont pas maîtrisées. En effet, environ 94 % des rejets sont acquis avec un autre producteur proche et 6 % achetés sur le marché. Ces rejets (97,1 %) sont issus d'une ancienne plantation. Selon les producteurs, 32,4 % des bananeraies ont présenté une bonne production au cours des deux dernières années dont 20,6 % avec une production satisfaisante (environ 15 tonnes/hectare par an) et 11,8 % avec une production très satisfaisante (environ 25 tonnes/hectare par an). La majorité des bananeraies soit 88,2 % avait une durée de vie variant de 2 à 5 ans et seulement 11,8 % avaient plus de 5 ans d'existence.

L'enquête a révélé également que 94,1 % des producteurs de la région du Haut Sassandra entretiennent leurs plantations par sarclage et par pulvérisation des champs de 2 à 4 fois par an. La majorité des chefs d'exploitation des bananeraies soit 91,2 % utilisent les herbicides pour lutter contre les mauvaises herbes et seulement 8,8 % utilisent la méthode manuelle (daba, machette). Quant à la lutte contre les maladies et les ravageurs, 85,3 % des producteurs pratiquent la méthode naturelle ou traditionnelle (destruction du bananier présentant une large

de maladie, pose de la bouse bovine sur les feuilles et les fruits) et 14,7 % utilisent des produits chimiques. Il est aussi noté que seulement 14,7 % des paysans fertilisent leur champ. Cette fertilisation se fait avec des fertilisants organiques (mélange de la bouse bovine avec des copeaux de bois, la fiente de poulet et le compost de la pelure de banane). Les reliefs des zones de culture sont plats dans 58,8 % des bananeraies et moyennement en pente dans 41,2 %. Les pratiques culturales dans les bananeraies du Haut-Sassandra sont résumés dans le tableau IX.



**Figure 20** : Répartition des systèmes culturels du plantain dans le Haut-Sassandra

**Tableau IX** : Quelques caractéristiques des bananeraies investiguées

| Paramètres                                         |                                                              | Nombre de bananeraies | Fréquence (%) |
|----------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|-----------------------|---------------|
| Culture sur-brûlis                                 |                                                              | 34                    | 100           |
| Acquisition des rejets                             | Avec un voisin                                               | 32                    | 94,1          |
|                                                    | Sur le marché                                                | 2                     | 5,9           |
| Type de rejets                                     | Plants sélectionnés                                          | 1                     | 2,9           |
|                                                    | Issus d'ancienne plantation                                  | 33                    | 97,1          |
| Production estimée                                 | Faible                                                       | 12                    | 35,3          |
|                                                    | Peu satisfaisant                                             | 11                    | 32,3          |
|                                                    | Satisfaisant                                                 | 7                     | 20,6          |
|                                                    | Élevée                                                       | 4                     | 11,8          |
| Age de la plantation (ans)                         | [2 à 5]                                                      | 30                    | 88,2          |
|                                                    | > 5                                                          | 4                     | 11,8          |
| Entretien de la bananeraie                         | < 2 fois par ans                                             | 2                     | 5,9           |
|                                                    | [2 à 4 fois par ans]                                         | 32                    | 94,1          |
|                                                    | Utilisation du même matériel pour l'ensemble des plantations | 34                    | 100           |
|                                                    |                                                              |                       |               |
| Méthodes de lutte contre les mauvaises herbes      | Herbicides                                                   | 31                    | 91,2          |
|                                                    | Manuel (Daba, machette)                                      | 3                     | 8,8           |
| Méthodes de lutte contre les maladies et ravageurs | Produits de synthèse chimique                                | 5                     | 14,7          |
|                                                    | Lutte biologique                                             | 29                    | 85,3          |
| Utilisation de fertilisants                        |                                                              | 5                     | 14,7          |
| Type de fertilisants utilisés                      | Engrais chimique                                             | 0                     | 0,0           |
|                                                    | Engrais organique                                            | 5                     | 14,7          |
|                                                    | Aucun                                                        | 29                    | 85,3          |
| Relief de la plantation                            | Plat                                                         | 20                    | 58,8          |
|                                                    | Moyennement en pente                                         | 14                    | 41,2          |

**NB** : Selon CIRAD (2023), la référence pour une bonne production de bananes plantains se situe entre 15 et 35 tonnes/hectare par an.

### 3.1.1.4. Impact des systèmes culturels sur la production du plantain

Environ 38 % des bananeraies en association ont présenté une bonne production (entre 15 et 25 tonnes/hectare par an) au cours des deux dernières années. Les bananiers de ces exploitations étaient robustes avec le feuillage en majorité verte. Quant aux bananeraies en monoculture, 87,5 % ont présenté une mauvaise production (entre 5 et 10 tonnes/hectare par an). Ces plantations étaient caractérisées par des plantes chétives avec des feuilles en majorité jaune (Tableau X).

**Tableau X** : Comparaison entre monoculture et association culturale du plantain dans le Haut-Sassandra

| Paramètres                           |             | Nombre de bananeraies   | Fréquence (%)                                                                |
|--------------------------------------|-------------|-------------------------|------------------------------------------------------------------------------|
| Rendement des bananeraies            | Association | 10 bananeraies (38,5 %) | avec une bonne production.                                                   |
|                                      | Monoculture | 1 bananeraies (12,5 %)  | avec une bonne production.                                                   |
| Aspects morphologiques des bananiers | Association | 10 bananeraies (38,5 %) | présentant des plants robustes avec des feuilles en majorité verte.          |
|                                      | Monoculture | 7 bananeraies (87,5 %)  | présentant des plants chétifs avec des surfaces foliaires en majorité jaune. |

**NB** : Selon CIRAD (2023), la référence pour une bonne production de bananes plantains se situe entre 15 et 35 tonnes/hectare par an.

### 3.1.1.5. Contraintes liées à la culture du plantain dans la région du Haut-Sassandra

La culture du bananier de la zone d'étude est soumise à diverses contraintes à savoir les effets des maladies biotiques et abiotiques et les attaques des ravageurs (Tableau XI). En effet, selon les chefs d'exploitation des bananeraies, toutes les plantations investiguées ont présenté souvent des symptômes de maladies. Ces maladies ont provoqué des pourritures de fruits dans 29,4 % des bananeraies, des dessèchements de feuilles, la pourriture des racines et la chute du pseudo-tronc dans 70,6 %. Les paysans ont attribué la cause de ces maladies à la sécheresse, au mauvais état du sol et aux attaques des animaux.

**Tableau XI** : Quelques contraintes liées à la culture bananière de la Région du Haut-Sassandra

| Paramètres                                |                                                                            | Nombre de bananeraies | Fréquence (%) |
|-------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|-----------------------|---------------|
| Attaque de la plantation par des maladies |                                                                            | 34                    | 100,0         |
|                                           | Pourritures des fruits                                                     | 10                    | 29,4          |
| Dégâts causés par ces maladies            | Dessèchement des feuilles, pourriture des racines et chute du pseudo-tronc | 24                    | 70,6          |
|                                           | Biotique                                                                   | 16                    | 47,1          |
| Symptômes de maladies                     | Abiotique (sécheresse, pauvreté du sol)                                    | 18                    | 52,9          |

### 3.1.1.6. Pratiques agroécologiques observées dans les bananeraies

Seulement 5,9 % des producteurs utilisent les haies vives pour lutter contre les vents violents (Tableau XII). Les haies vives sont constituées soit de plantes d'hévéa (*Hevea brasiliensis*) ou de teck (*Tectona grandis*). Quelques pratiques écologiques ont été observées dans certaines plantations notamment avec l'apport de fumier dans 2,9 % des bananeraies et l'utilisation de plantes de couvertures dans 5,9 % des plantations (Tableau XII). Les plantes de couverture sont constituées principalement de légumineuses telles que le soja (*Glycine max*) et le niébé (*Vigna unguiculata*) (Figure 21).

**Tableau XII** : Pratiques agroforestières et écologiques observées dans les bananeraies

| Paramètres                                            | Nombre de bananeraies | Fréquence (%) |
|-------------------------------------------------------|-----------------------|---------------|
| Utilisation de haies vives pour lutter contre le vent | 2                     | 5,9           |
| Apport de fumier                                      | 1                     | 2,9           |
| Utilisation de plantes de couverture                  | 2                     | 5,9           |



**Figure 21** : Système d'association culturale entre bananier et soja

#### **3.1.1.7. Propriétés chimiques et physiques des sols rhizosphériques des bananiers**

Les caractéristiques chimiques des sols rhizosphériques des bananiers sont résumées dans le tableau XIII. L'analyse des paramètres chimiques a révélé des pH acides pour l'ensemble des sols étudiés, avec des valeurs comprises entre 4,8 et 5,6. Les taux de carbone, de matière organique et d'azote de ces sols étaient moyens. Le rapport C/N a présenté des valeurs normales pour certains sols analysés, tandis que d'autres ont affiché des valeurs élevées et très élevées. Les proportions des différentes fractions de ces sols sont présentées dans le tableau XIV. A partir de ces proportions trois classes texturales ont été identifiées au niveau des sols, à savoir les sols sablo-limoneux, limono-sableux et limoneux.

**Tableau XIII** : Caractéristiques chimiques des sols rhizosphériques des bananiers de la région du Haut-Sassandra

| Départements | Systèmes           | pH <sub>eau</sub> | % N <sub>T</sub> | % C         | % MO        | C/N         | Interprétation C/N |
|--------------|--------------------|-------------------|------------------|-------------|-------------|-------------|--------------------|
| Daloa        | Monoculture (N= 2) | 5,6 ± 0,1         | 0,14 ± 0,01      | 1,2 ± 0,03  | 2,06 ± 0,03 | 8,57 ± 0,1  | Normal             |
|              | Association (N= 2) | 4,8 ± 0,3         | 0,18 ± 0,0       | 2,14 ± 0,01 | 3,68 ± 0,01 | 11,88 ± 0,9 | Normal             |
| Vavoua       | Monoculture (N= 2) | 5,2 ± 0,3         | 0,1 ± 0,0        | 0,84 ± 0,02 | 1,44 ± 0,01 | 8,4 ± 0,1   | Normal             |
|              | Association (N= 2) | 5,2 ± 0,05        | 0,084 ± 0,0      | 1,54 ± 0,01 | 2,64 ± 0,05 | 18,33 ± 0,8 | Très élevé         |
| Issia        | Monoculture (N= 2) | 5,1 ± 0,01        | 0,112 ± 0,0      | 1,11 ± 0,01 | 1,91 ± 0,03 | 9,91 ± 0,5  | Normal             |
|              | Association (N= 2) | 4,9 ± 0,07        | 0,17 ± 0,0       | 1,75 ± 0,03 | 3,01 ± 0,07 | 10,29 ± 0,8 | Normal             |
| Zoukougbeu   | Monoculture (N= 2) | 5,3 ± 0,4         | 0,1 ± 0,01       | 1,32 ± 0,0  | 2,27 ± 0,01 | 13,2 ± 0,9  | Élevé              |
|              | Association (N= 2) | 5,4 ± 0,2         | 0,17 ± 0,01      | 2,8 ± 0,02  | 4,81 ± 0,05 | 16,47 ± 0,7 | Très élevé         |
|              |                    | Acide             | Moyen            | Moyen       | Moyen       |             |                    |

N<sub>T</sub> : Azote Total ; C : carbone ; MO : Matière Organique ; C/N : Rapport carbone/azote ; N : nombre d'échantillons

**Tableau XIV** : Caractéristiques physiques des sols rhizosphériques des bananiers de la région du Haut-Sassandra

| Départements | Système            | % A        | % Lf       | % Lg        | % Sf        | % Sg        | Texture         |
|--------------|--------------------|------------|------------|-------------|-------------|-------------|-----------------|
| Daloa        | Monoculture (N= 2) | 7,5 ± 0,7  | 12 ± 0,1   | 17,15 ± 1,0 | 16,45 ± 0,3 | 46,9 ± 1,7  | Limono-sableuse |
|              | Association (N= 2) | 4 ± 0,9    | 12 ± 0,01  | 9,15 ± 0,4  | 30,05 ± 0,7 | 44,8 ± 1,4  | Sablo-limoneuse |
| Vavoua       | Monoculture (N= 2) | 6 ± 0,05   | 18,5 ± 0,9 | 14,65 ± 1,1 | 15,7 ± 0,9  | 45,15 ± 1,1 | Limono-sableuse |
|              | Association (N= 2) | 10 ± 0,8   | 8 ± 0,4    | 13,8 ± 1,1  | 18,15 ± 0,8 | 50,05 ± 1,4 | Limono-sableuse |
| Issia        | Monoculture (N= 2) | 10,5 ± 1,0 | 8 ± 0,8    | 16,7 ± 1,3  | 11,6 ± 0,8  | 53,2 ± 0,9  | Limono-sableuse |
|              | Association (N= 2) | 11 ± 0,9   | 16,6 ± 1,1 | 7,4 ± 0,01  | 19,75 ± 0,3 | 45,25 ± 0,9 | Limono-sableuse |
| Zoukougbeu   | Monoculture (N= 2) | 7 ± 0,1    | 11 ± 0,7   | 12 ± 0,9    | 20,45 ± 1,0 | 49,55 ± 1,5 | Limono-sableuse |
|              | Association (N= 2) | 10 ± 0,3   | 16 ± 0,9   | 28,7 ± 1,3  | 26,6 ± 1,2  | 18,7 ± 0,9  | Limoneuse       |

A : Argile ; Lf : Limon fin ; Lg : Limon grossier ; Sf : Sable fin ; Sg : Sable grossier ; N : nombre d'échantillons

### **3.1.1.8. Variation des teneurs des propriétés physico-chimiques des sols selon le système de culture et le département**

Les propriétés physico-chimiques des sols rhizosphériques ont varié de manière significative en fonction du système cultural, du département et de leur interaction ( $p < 0,05$ ) (Tableau XV).

L'analyse des propriétés physiques des sols a révélé que les sols des systèmes d'associations culturales contiennent des proportions plus élevées en argile (Arg), en limon fin (Lf) et en sable fin (Sf) par rapport aux monocultures. En revanche, les sols des monocultures ont présenté des proportions considérables de limon grossier (Lg) et de sable grossier (Sg). Sur le plan chimique, un pH<sub>eau</sub> moins acide a été observé au niveau des sols des monocultures, tandis que ceux des systèmes d'associations culturales ont affiché des teneurs plus élevées en azote total (NT), en carbone (C) et un rapport carbone/azote (C/N) très élevé (Tableau XVI).

En ce qui concerne les propriétés physiques selon le département, les sols de Issia ont été différents par leur proportion en argile (Arg) très élevée, tandis que ceux de Daloa ont présenté la plus faible proportion. La plus forte proportion en limon fin (Lf) a été notée dans les sols des départements de Zoukougbeu et Vavoua, alors que la plus faible proportion en limon fin (Lf) a été enregistrée avec les sols de Daloa. Pour le limon grossier (Lg), la plus grande proportion a été trouvée dans les sols de Zoukougbeu, tandis que ceux de Issia ont affiché la plus faible proportion. Les sols de Daloa et Zoukougbeu ont montré également une proportion plus élevée en sable fin (Sf), alors que ceux de Issia ont présenté la plus faible. Concernant le sable grossier (Sg), la plus grande proportion a été observée avec les sols de Issia, tandis que la plus faible a été enregistrée avec les sols de Zoukougbeu. L'analyse chimique des sols a révélé que les échantillons des départements de Daloa, Vavoua et Issia ont un pH<sub>eau</sub> plus acide que ceux de Zoukougbeu qui ont affiché un pH<sub>eau</sub> moins acide. La plus grande teneur en azote total (NT) a été observée dans les sols des départements de Daloa, Issia et Zoukougbeu, avec la plus faible à Vavoua. Les sols de Zoukougbeu ont présenté la plus forte teneur en carbone (C), alors que ceux de Vavoua ont indiqué la plus faible. Enfin, la plus grande valeur du rapport carbone/azote (C/N) a été observée dans les sols de Zoukougbeu, tandis que ceux de Daloa et Issia ont montré la plus faible (Tableau XVI).

**Tableau XV** : Analyse de variance des propriétés physico-chimiques des sols selon le système de culture et le département

| Variables | Facteurs de variation | ddl | Déviante  | P valeur (> F) |
|-----------|-----------------------|-----|-----------|----------------|
| Arg       | Système               | 1   | 76,71     | < 2,2e-16 ***  |
|           | Département           | 3   | 29,78     | < 2,2e-16 ***  |
|           | Système : Département | 3   | 0,26      | < 2,2e-16 ***  |
| Lf        | Système               | 1   | 211,093   | 1,569e-05 ***  |
|           | Département           | 3   | 202,995   | < 2,2e-16 ***  |
|           | Système : Département | 3   | 0,613     | < 2,2e-16 ***  |
| Lg        | Système               | 1   | 593,12    | 2,473e-11 ***  |
|           | Département           | 3   | 431,57    | < 2,2e-16 ***  |
|           | Système : Département | 3   | 0,11      | < 2,2e-16 ***  |
| Sf        | Système               | 1   | 277,12    | < 2,2e-16 ***  |
|           | Département           | 3   | 67,96     | < 2,2e-16 ***  |
|           | Système : Département | 3   | 0,14      | < 2,2e-16 ***  |
| Sg        | Système               | 1   | 1292,75   | < 2,2e-16 ***  |
|           | Département           | 3   | 726,12    | < 2,2e-16 ***  |
|           | Système : Département | 3   | 0,05      | < 2,2e-16 ***  |
| pHeau     | Système               | 1   | 0,79      | 2,209e-05 ***  |
|           | Département           | 3   | 0,47      | 8,208e-14 ***  |
|           | Système : Département | 3   | 0,04      | < 2,2e-16 ***  |
| NT        | Système               | 1   | 0,0148915 | < 2,2e-16 ***  |
|           | Département           | 3   | 0,0057062 | < 2,2e-16 ***  |
|           | Système : Département | 3   | 0,0002270 | < 2,2e-16 ***  |
| C         | Système               | 1   | 2,3702    | < 2,2e-16 ***  |
|           | Département           | 3   | 0,5393    | < 2,2e-16 ***  |
|           | Système : Département | 3   | 0,0376    | < 2,2e-16 ***  |
| MO        | Système               | 1   | 6,3165    | < 2,2e-16 ***  |
|           | Département           | 3   | 1,3270    | < 2,2e-16 ***  |
|           | Système : Département | 3   | 0,0036    | < 2,2e-16 ***  |
| C/N       | Système               | 1   | 120,971   | < 2,2e-16 ***  |
|           | Département           | 3   | 59,656    | < 2,2e-16 ***  |
|           | Système : Département | 3   | 3,244     | < 2,2e-16 ***  |

\* : P valeur < 0,05 ; \*\* : P valeur < 0,01 ; \*\*\* : P valeur < 0,001 ; ddl : degré de liberté

**Tableau XVI :** Paramètres physico-chimiques selon le système de culture et le département

| Variables | Valeur moyenne $\pm$ écart type |                               |                               |                               |                               |                                |
|-----------|---------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
|           | Monoculture<br>(N= 8)           | Association<br>(N= 8)         | Daloa<br>(N= 4)               | Vavoua<br>(N= 4)              | Issia<br>(N= 4)               | Zoukougbeu<br>(N= 4)           |
| Arg       | 7,74 $\pm$ 1,75 <sup>b</sup>    | 8,82 $\pm$ 2,80 <sup>a</sup>  | 5,90 $\pm$ 1,80 <sup>c</sup>  | 8,00 $\pm$ 2,30 <sup>b</sup>  | 10,70 $\pm$ 0,30 <sup>a</sup> | 8,50 $\pm$ 1,70 <sup>b</sup>   |
| Lf        | 12,44 $\pm$ 4,05 <sup>b</sup>   | 13,03 $\pm$ 3,71 <sup>a</sup> | 11,80 $\pm$ 0,60 <sup>c</sup> | 13,30 $\pm$ 60 <sup>a</sup>   | 12,30 $\pm$ 4,90 <sup>b</sup> | 13,60 $\pm$ 2,90 <sup>a</sup>  |
| Lg        | 15,10 $\pm$ 2,22 <sup>a</sup>   | 14,72 $\pm$ 6,93 <sup>b</sup> | 13,10 $\pm$ 4,70 <sup>c</sup> | 14,10 $\pm$ 0,60 <sup>b</sup> | 12,20 $\pm$ 5,30 <sup>d</sup> | 20,30 $\pm$ 9,70 <sup>a</sup>  |
| Sf        | 16,04 $\pm$ 3,37 <sup>b</sup>   | 23,71 $\pm$ 5,31 <sup>a</sup> | 23,40 $\pm$ 80 <sup>a</sup>   | 16,90 $\pm$ 1,0 <sup>b</sup>  | 15,60 $\pm$ 4,70 <sup>c</sup> | 23,50 $\pm$ 3,90 <sup>a</sup>  |
| Sg        | 48,68 $\pm$ 3,26 <sup>a</sup>   | 39,72 $\pm$ 7,19 <sup>b</sup> | 45,80 $\pm$ 1,20 <sup>c</sup> | 47,70 $\pm$ 2,90 <sup>b</sup> | 49,20 $\pm$ 4,60 <sup>a</sup> | 34,10 $\pm$ 17,80 <sup>d</sup> |
| pHeau     | 5,27 $\pm$ 0,21 <sup>a</sup>    | 5,12 $\pm$ 0,26 <sup>b</sup>  | 5,26 $\pm$ 0,41 <sup>b</sup>  | 5,23 $\pm$ 0,10 <sup>b</sup>  | 5,00 $\pm$ 0,10 <sup>b</sup>  | 5,40 $\pm$ 0,10 <sup>a</sup>   |
| NT        | 0,11 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>    | 0,15 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>  | 0,16 $\pm$ 0 <sup>a</sup>     | 0,09 $\pm$ 0 <sup>b</sup>     | 0,14 $\pm$ 0 <sup>a</sup>     | 0,14 $\pm$ 0 <sup>a</sup>      |
| C         | 1,13 $\pm$ 0,22 <sup>b</sup>    | 2,10 $\pm$ 0,54 <sup>a</sup>  | 1,72 $\pm$ 0,5 <sup>b</sup>   | 1,19 $\pm$ 0,40 <sup>d</sup>  | 1,42 $\pm$ 0,40 <sup>c</sup>  | 2,09 $\pm$ 0,90 <sup>a</sup>   |
| MO        | 1,92 $\pm$ 0,33 <sup>b</sup>    | 3,55 $\pm$ 0,89 <sup>a</sup>  | 2,90 $\pm$ 10 <sup>b</sup>    | 2,04 $\pm$ 0,70 <sup>d</sup>  | 2,46 $\pm$ 0,60 <sup>c</sup>  | 3,55 $\pm$ 1,50 <sup>a</sup>   |
| C/N       | 10,27 $\pm$ 2,11 <sup>b</sup>   | 14,00 $\pm$ 2,50 <sup>a</sup> | 10,63 $\pm$ 1,44 <sup>c</sup> | 13,16 $\pm$ 6,00 <sup>b</sup> | 9,87 $\pm$ 0,51 <sup>c</sup>  | 14,76 $\pm$ 1,90 <sup>a</sup>  |

N : nombre d'échantillons ; Les valeurs affectées de la même lettre sont identiques selon le test LSD de Fisher au seuil  $\alpha = 5 \%$

### **3.1.2. Champignons présents dans le sol rhizosphérique des bananeraies dans la région du Haut-Sassandra**

#### **3.1.2.1. Caractéristiques morphologiques des moisissures isolées de la rhizosphère des bananiers**

L'analyse microbiologique des échantillons de sols prélevés dans les bananeraies du Haut-Sassandra, a permis d'obtenir 109 isolats. A partir des clés d'identification intégrant les caractéristiques macroscopiques et microscopiques, les 109 isolats ont été répartis dans 14 genres de moisissures dont *Hamigera*, *Trichoderma*, *Neurospora*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Rhizomucor*, *Rhizopus*, *Absidia*, *Alternaria*, *Acremonium*, *Scytalidium*, *Scedosporium* et *Bipolaris*. Les genres tels que *Neurospora*, *Mucor*, *Rhizomucor*, *Rhizopus*, *Absidia* et *Alternaria* ont un mycélium aérien, envahissant et une croissance rapide sur le milieu gélosé Sabouraud au chloramphénicol à 30 °C (Tableau XVIII). D'autres tels que *Trichoderma*, *Hamigera*, *Aspergillus*, *Scedosporium* et *Bipolaris* se caractérisent par un mycélium bas, envahissant et une croissance rapide sur le milieu gélosé Sabouraud au chloramphénicol à 30 °C (Tableau XIX). Les genres *Fusarium*, *Acremonium* et *Scytalidium* ont un mycélium bas, non envahissant et une croissance modérée sur Sabouraud au chloramphénicol à 30 °C (Tableau XX). Au microscope, ces champignons se différencient par le mode de ramification et la forme de leurs filaments. La description macroscopique et microscopique ci-après de ces champignons a été effectuée à partir de cultures âgées de 3 à 7 jours (Tableau XVII).

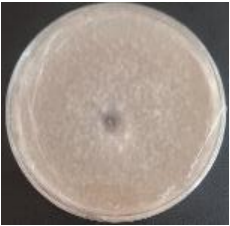
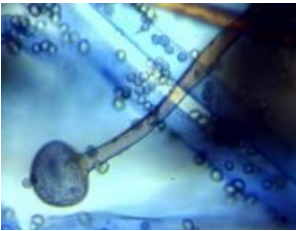
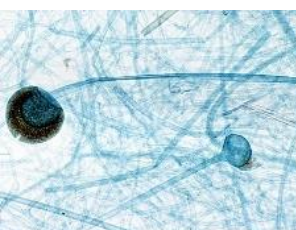
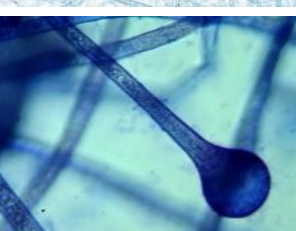
**Tableau XVII :** Caractéristiques macroscopiques et microscopiques des champignons isolés de la rhizosphère des bananiers du Haut-Sassandra

| Genres             | Codes isolats                                            | Description macroscopique                                                                                                                                                                                                                                                    | Description microscopique                                                                                                                                                                                            |
|--------------------|----------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Hamigera</i>    | A11E, A6, V2, A7, A24', A67', A80                        | Colonie jaunâtre au début puis devient vert clair au 7 <sup>ème</sup> jour ; aspect poudreux ; mycélium bas et envahissant de forme irrégulière ; croissance rapide sur Sabouraud au chloramphénicol à 30 °C (diamètre > 4 cm au 5 <sup>ème</sup> jour).                     | Conidiophores courbés et ramifiés en plusieurs longues branches portant des phialides ; phialides portant des conidies de formes ovales ; phialides serrées les unes contre les autres donnant une image de pinceau. |
| <i>Trichoderma</i> | A7E, A12, A30, D5, A12E, A15, A29, D6, I3, V4, A12', A7' | Colonie blanchâtre au début puis devient totalement verdâtre à partir du 5 <sup>ème</sup> jour ; aspect duveteux ; colonie circulaire ; mycélium bas et envahissant ; croissance rapide sur Sabouraud au chloramphénicol à 30 °C (diamètre > 4 cm au 5 <sup>ème</sup> jour). | Phialides en verticilles fixés à angle droit sur le conidiophore ; conidies lisses et circulaires se rassemblant en amas au sommet des phialides.                                                                    |
|                    | A21, I4, I12, I25                                        | Colonie jaunâtre de forme circulaire (à partir du 5 <sup>ème</sup> jour, des spores verdâtres apparaissent) ; aspect duveteux ; mycélium bas et envahissant ; croissance rapide sur Sabouraud au chloramphénicol à 30 °C (diamètre > 4 cm au 5 <sup>ème</sup> jour).         |                                                                                                                                                                                                                      |
| <i>Aspergillus</i> | A13E, A17, D6                                            | Colonie verdâtre à contour blanchâtre ; mycélium circulaire d'aspect duveteux ; croissance rapide sur Sabouraud au chloramphénicol à 30 °C (diamètre > 4 cm au 5 <sup>ème</sup> jour).                                                                                       | Longs conidiophores se terminant par des têtes renflées ; mycélium cloisonné portant de nombreux conidiophores dressés.                                                                                              |
|                    | A13, A16, A28, A35, A44, A70, A70E, A73                  | Colonie noirâtre d'aspect poudreux ; mycélium bas et envahissant de forme irrégulière ; croissance rapide sur Sabouraud au chloramphénicol à 30 °C (diamètre > 4 cm au 5 <sup>ème</sup> jour).                                                                               | Conidiophore lisse se terminant par une tête aspergillaire bisériée en colonne qui devient noire à maturité.                                                                                                         |
|                    | A1, A9, A35E, A83, A83E                                  | Colonie blanchâtre au début qui devient verdâtre à partir du 4 <sup>ème</sup> jour ; mycélium bas et envahissant de forme circulaire d'aspect duveteux ; croissance rapide sur Sabouraud au chloramphénicol à 30 °C (diamètre > 4 cm au 5 <sup>ème</sup> jour).              | Conidiophores ramifiés en plusieurs courtes branches portant des phialides étroitement regroupées formant une apparence de pinceau ; phialides portant des conidies de formes ovales.                                |

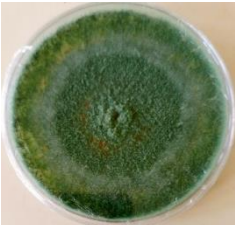
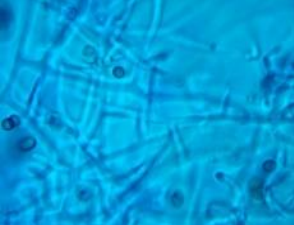
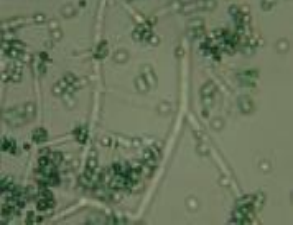
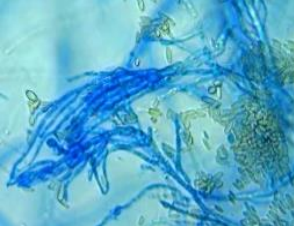
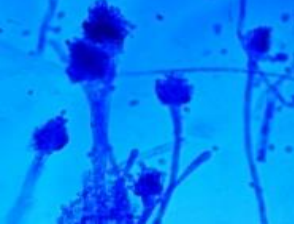
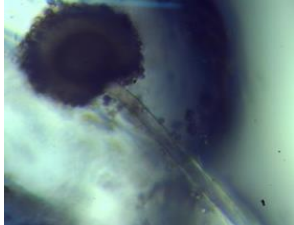
|                     |                                                |                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                |
|---------------------|------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                     | I6, A52, A50E, Z10                             | Colonie jaunâtre d'aspect poudreux ; mycélium bas et envahissant de forme irrégulière ; croissance rapide sur Sabouraud au chloramphénicol à 30 °C (diamètre > 4 cm au 5 <sup>ème</sup> jour).                                             | Conidiophores lisses et incolores avec évasement progressif des têtes aspergillaires.                                                                          |
| <i>Scedosporium</i> | A37, A38, A39                                  | Colonie grisâtre d'aspect duveteux ; croissance rapide sur Sabouraud au chloramphénicol à 30 °C (diamètre > 4 cm au 5 <sup>ème</sup> ) ; mycélium bas et envahissant de forme circulaire.                                                  | Filaments végétatifs septés et hyalins portant des spores ovales à l'extrémité ou sur les côtés.                                                               |
| <i>Bipolaris</i>    | D2, D9, Z3E, A60                               | Colonie grisâtre d'aspect duveteux ; forme circulaire ; croissance rapide sur Sabouraud au Chloramphénicol à 30 °C (diamètre > 4 cm au 5 <sup>ème</sup> ) ; mycélium bas et envahissant de forme circulaire.                               | Conidiophore simple à croissance sympodiale ; conidies oblongues en fuseau et groupées de part et d'autre de la partie terminale du conidiophore.              |
| <i>Neurospora</i>   | A20, Z14, Z16, A29E, A60E                      | Colonie circulaire d'aspect duveteux ; mycélium aérien de couleur beige au début puis devient orange au 5 <sup>ème</sup> jour ; croissance rapide sur Sabouraud au chloramphénicol à 30 °C (diamètre > 4 cm au 5 <sup>ème</sup> ).         | Filaments se présentant sous la forme d'axones qui s'entrelacent pour former un tapis.                                                                         |
| <i>Mucor</i>        | A4, D4, B11, A19, A33, Z17, Z20, I30, V17, V40 | Colonie grisâtre d'aspect floconneux ; mycélium aérien et envahissant de forme circulaire ; croissance rapide sur Sabouraud au chloramphénicol à 30 °C (diamètre > 4 cm au 5 <sup>ème</sup> ).                                             | Filaments larges et non septés ; pas de stolons ni rhizoïdes ; conidiophores se terminant par une columelle ovoïde ; chlamydospores présentes et abondantes.   |
| <i>Rhizomucor</i>   | A10, A34, D11, D24, D27, D30E                  | Colonie blanchâtre qui devient beige au 5 <sup>ème</sup> jour ; aspect cotonneux ; mycélium aérien et envahissant de forme circulaire ; croissance rapide sur Sabouraud au chloramphénicol à 30 °C (diamètre > 4 cm au 5 <sup>ème</sup> ). | Filaments larges peu septé ; présence de stolons et de rhizoïdes très primitifs ; chlamydospores moins abondantes.                                             |
| <i>Rhizopus</i>     | A22, A23, A8E, A9E, A53, A78, A90              | Colonie blanchâtre d'aspect cotonneux ; mycélium aérien de forme circulaire ; croissance rapide sur Sabouraud au chloramphénicol à 30 °C (diamètre > 4 cm au 5 <sup>ème</sup> ).                                                           | Sporangiophores en bouquet partant de rhizoïdes bien développés ; absences de chlamydospores.                                                                  |
| <i>Absidia</i>      | A18, A24, A42, A43, A76, A10'                  | Colonie blanchâtre d'aspect floconneux de forme circulaire ; mycélium aérien et envahissant ; croissance rapide sur Sabouraud au chloramphénicol à 30 °C (diamètre > 4 cm au 5 <sup>ème</sup> ).                                           | Longs filaments non septés se terminant par une large apophyse conique (évasement en forme d'entonnoir) ; présence de stolons avec des rhizoïdes peu nombreux. |

|                    |                                     |                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                              |
|--------------------|-------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Alternaria</i>  | A32, D8, A31, A30E, A20E, A13', A75 | Colonie grisâtre d'aspect duveteux et de forme circulaire ; mycélium aérien et envahissant ; croissance rapide sur Sabouraud au chloramphénicol à 30 °C (diamètre > 4 cm au 5 <sup>ème</sup> ).                                            | Hyphes ramifiés, dématiés et septés ; conidiophores plus ou moins sinueux (en zigzag).                                                                       |
| <i>Fusarium</i>    | A40, A27, V11, A14E, V9, V10        | Mycélium bas avec une croissance lente sur Sabouraud au chloramphénicol à 30 °C (diamètre < 4 cm au 5 <sup>ème</sup> ) ; colonie circulaire d'aspect cotonneux ; mycélium blanchâtre au début puis devient rouge au 7 <sup>ème</sup> jour. | Macroconidies rares se présentant sous formes de croissant ; microconidies ovales, hyalines et abondantes ; conidiophores courts.                            |
| <i>Acremonium</i>  | A3, A26, D10, D1, D3, I10, I11      | Colonie blanchâtre d'aspect cotonneux ; mycélium bas et ras de forme circulaire ; croissance lente sur Sabouraud au chloramphénicol à 30 °C (diamètre < 4 cm au 5 <sup>ème</sup> ).                                                        | Filaments septés disposés parallèlement les uns aux autres ; conidies hyalines et cylindriques ou elliptiques regroupés en amas à l'extrémité des phialides. |
| <i>Scytalidium</i> | A8, A11, A1', A5', A9'              | Colonie blanchâtre de forme circulaire ; mycélium bas et ras d'aspect cotonneux ; croissance lente sur Sabouraud au chloramphénicol à 30 °C (diamètre < 4 cm au 5 <sup>ème</sup> ).                                                        | Filaments hyalins régulièrement septés produisant des arthroconidies hyalines.                                                                               |

**Tableau XVIII :** Aspects macroscopique et microscopique des champignons avec un mycélium aérien et envahissant

| Isolats           | Aspect macroscopique                                                                | Aspect microscopique                                                                 |
|-------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Neurospora</i> |    |    |
| <i>Mucor</i>      |    |    |
| <i>Rhizomucor</i> |   |   |
| <i>Rhizopus</i>   |  |  |
| <i>Absidia</i>    |  |  |
| <i>Alternaria</i> |  |  |

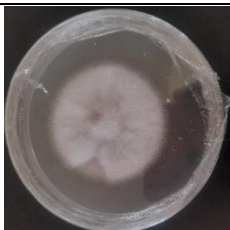
**Tableau XIX :** Aspects macroscopique et microscopique des champignons avec un mycélium bas et envahissant

| Isolats                              | Aspect macroscopique                                                                | Aspect microscopique                                                                 |
|--------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Trichoderma</i> sp <sub>1</sub> . |    |    |
| <i>Trichoderma</i> sp <sub>2</sub> . |    |    |
| <i>Trichoderma</i> sp <sub>3</sub> . |   |   |
| <i>Hamigera</i>                      |  |  |
| <i>Aspergillus</i> sp <sub>1</sub> . |  |  |
| <i>Aspergillus</i> sp <sub>2</sub> . |  |  |
| <i>Aspergillus</i> sp <sub>3</sub> . |  |  |

Suite Tableau XVII

|                         |                                                                                   |                                                                                     |
|-------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Aspergillus</i> sp4. |  |  |
| <i>Scedosporium</i>     |  |  |
| <i>Bipolaris</i>        |  |  |

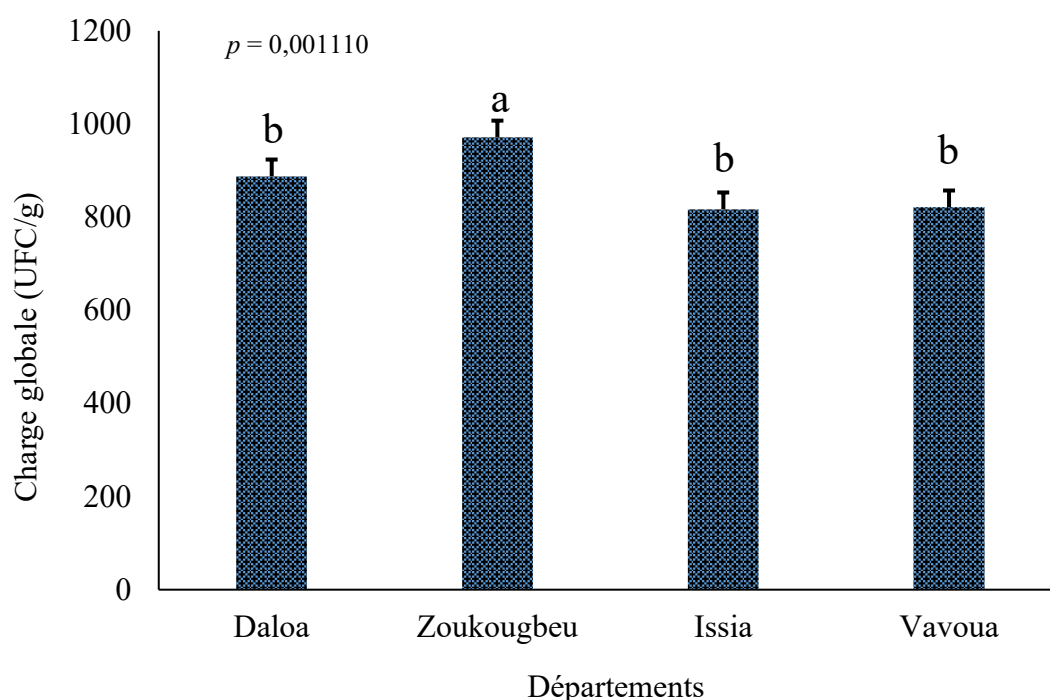
**Tableau XX** : Aspects macroscopique et microscopique des champignons avec un mycélium bas et non envahissant

| Isolats            | Aspect macroscopique                                                                | Aspect microscopique                                                                  |
|--------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Fusarium</i>    |  |  |
| <i>Acremonium</i>  |  |  |
| <i>Scytalidium</i> |  |  |

### 3.1.2.2. Densités fongiques des sols des bananeraies

#### 3.1.2.2.1. Charges fongiques des sols en fonction des départements

Les charges des champignons microscopiques dans les sols rhizosphériques des bananeraies des départements du Haut-Sassandra ont révélé des différences significatives ( $P < 0,05$ ), avec une charge particulièrement élevée dans les bananeraies de Zoukougbeu (971 UFC/g) par rapport à celles de Daloa (887,5 UFC/g), Issia (816,75 UFC/g) et Vavoua (821 UFC/g) (Figure 22).



**Figure 22** : Charges fongiques des différents départements du Haut-Sassandra

Les bandes affectées de la même lettre indiquent des charges identiques selon le test LSD de Fisher au seuil  $\alpha = 5\%$ .

#### 3.1.2.2.2. Charges fongiques des sols en fonction des systèmes cultureux

Les charges fongiques de la rhizosphère des bananiers en fonction des systèmes cultureux dans chaque département sont résumées dans le tableau XXI. Les charges fongiques observées ont montré des variations significatives ( $P < 0,05$ ) entre les différents systèmes cultureux. L'analyse statistique a mis en évidence que la charge microbienne est plus élevée dans les sols des bananiers associés à d'autres cultures comparativement aux sols des monocultures de bananiers. La charge fongique la plus élevée a été observée dans les sols des bananiers associés à d'autres cultures de Zoukougbeu, tandis que ceux de Vavoua ont présenté la charge

la plus faible. En revanche, les charges fongiques étaient statistiquement identiques au sein des sols des monocultures.

**Tableau XXI** : Charges fongiques de la rhizosphère des bananiers de la Région du Haut-Sassandra en fonction des systèmes culturaux

| Départements | Systèmes culturaux | Charges fongiques (UFC/g)     |
|--------------|--------------------|-------------------------------|
| Daloa        | Association (N= 6) | 1275,00 ± 11,3 <sup>ab</sup>  |
|              | Monoculture (N= 6) | 500,00 ± 0,00 <sup>c</sup>    |
| Zoukougbeu   | Association (N= 6) | 1358,50 ± 153,44 <sup>a</sup> |
|              | Monoculture (N= 6) | 583,50 ± 47,38 <sup>c</sup>   |
| Issia        | Association (N= 6) | 1175,00 ± 11,31 <sup>ab</sup> |
|              | Monoculture (N= 6) | 458,50 ± 12,02 <sup>c</sup>   |
| Vavoua       | Association (N= 6) | 1083,50 ± 94,04 <sup>b</sup>  |
|              | Monoculture (N= 6) | 558,50 ± 58,69 <sup>c</sup>   |

N : nombre d'échantillons ; P = 0,00207.

Les valeurs affectées de la même lettre sont identiques selon le test LSD de Fisher au seuil  $\alpha = 5\%$ .

### 3.1.2.3. Diversité en genres fongiques des bananeraies

#### 3.1.2.3.1. Richesse spécifique de la rhizosphère des bananiers en fonction des départements

La richesse spécifique de la rhizosphère des bananiers, résumée dans le tableau XXII, était identique dans tous les départements du Haut-Sassandra avec 14 genres fongiques identifiés. La répartition des micromycètes montre que dans le département de Daloa, les genres *Hamigera*, *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Scedosporium*, *Bipolaris*, *Mucor* et *Rhizopus* étaient présents dans toutes les bananeraies. À Vavoua, on retrouvait les genres *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizomucor*, *Rhizopus*, *Fusarium* et *Scytalidium* dans toutes les plantations. Dans le département de Issia, les genres *Hamigera*, *Aspergillus*, *Bipolaris*, *Neurospora*, *Rhizomucor*, *Fusarium* et *Acremonium* étaient présents dans toutes les plantations. Enfin, à Zoukougbeu, les genres *Hamigera*, *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Neurospora*, *Mucor*, *Rhizomucor*, *Rhizopus*, *Absidia* et *Fusarium* ont été identifiés dans toutes les bananeraies.

Cette distribution souligne l'ubiquité de certains genres, tels que *Hamigera*, *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizomucor*, *Rhizopus* et *Fusarium*, qui apparaissent régulièrement dans la majorité des bananeraies des différents départements.

**Tableau XXII** : Richesse spécifique des départements en genre fongique

| Genres                  | Bananeraie par département |        |       |            |
|-------------------------|----------------------------|--------|-------|------------|
|                         | Daloa                      | Vavoua | Issia | Zoukougbeu |
| <i>Hamigera</i>         | ++                         | +      | ++    | ++         |
| <i>Trichoderma</i>      | ++                         | ++     | +     | ++         |
| <i>Aspergillus</i>      | ++                         | ++     | ++    | ++         |
| <i>Scedosporium</i>     | ++                         | +      | +     | +          |
| <i>Bipolaris</i>        | ++                         | +      | ++    | +          |
| <i>Neurospora</i>       | +                          | +      | ++    | ++         |
| <i>Mucor</i>            | ++                         | ++     | +     | ++         |
| <i>Rhizomucor</i>       | +                          | ++     | ++    | ++         |
| <i>Rhizopus</i>         | ++                         | ++     | +     | ++         |
| <i>Absidia</i>          | +                          | +      | +     | ++         |
| <i>Alternaria</i>       | +                          | +      | +     | +          |
| <i>Fusarium</i>         | +                          | ++     | ++    | ++         |
| <i>Acremonium</i>       | ++                         | +      | ++    | +          |
| <i>Scytalidium</i>      | +                          | ++     | +     | +          |
| Richesse spécifique (S) | 14                         | 14     | 14    | 14         |

++ : présence des champignons dans toutes les bananeraies d'un département donné ;

+

### 3.1.2.3.2. Richesse spécifique de la rhizosphère des bananiers en fonction des systèmes culturaux

La richesse spécifique de la rhizosphère des bananiers en genres fongiques en fonction des systèmes culturaux est résumée dans le tableau XXIII. Les analyses ont montré que les bananeraies en association culturale (A1 et A2) présentaient une richesse spécifique plus élevée en genres fongiques que celles en monocultures (M1 et M2) dans tous les départements étudiés. Dans les associations culturales de la zone de Vavoua, 10 et 12 genres fongiques ont été dénombrés contre seulement 7 genres fongiques pour les monocultures. Dans la zone de Daloa, 12 et 13 genres ont été trouvés dans les systèmes en association culturale contre 9 et 10 genres dans les monocultures. Dans la zone de Issia, 13 et 14 genres ont été notifiés, tandis que les monocultures renfermaient 8 genres chacune. Pour la zone de Zoukougbeu, dans les associations culturales des bananeraies, les richesses maximales en genres fongiques étaient de 14, alors que celles des monocultures étaient de 10 à 11 genres. L'analyse de la répartition

des micromycètes a révélé que les genres *Aspergillus*, *Rhizopus* et *Trichoderma* étaient présents dans tous les départements, quel que soit le système de culture utilisé. Les genres *Hamigera*, *Neurospora*, *Scedosporium*, *Scytalidium*, *Bipolaris*, *Mucor*, *Absidia*, *Alternaria*, *Acremonium* et *Rhizomucor* ont été observés plus fréquemment dans les bananeraies en cultures associées. En revanche, *Fusarium* a été régulièrement retrouvé dans les monocultures.

**Tableau XXIII** : Richesse spécifique des champignons de la rhizosphère des bananiers en fonction des systèmes culturaux

| Moisissures             | Systèmes culturaux par département |    |    |    |        |    |    |    |       |    |    |    |            |    |    |    |
|-------------------------|------------------------------------|----|----|----|--------|----|----|----|-------|----|----|----|------------|----|----|----|
|                         | Daloa                              |    |    |    | Vavoua |    |    |    | Issia |    |    |    | Zoukougbeu |    |    |    |
|                         | A1                                 | A2 | M1 | M2 | A1     | A2 | M1 | M2 | A1    | A2 | M1 | M2 | A1         | A2 | M1 | M2 |
| <i>Hamigera</i>         | +                                  | +  | +  | +  | +      | -  | -  | -  | +     | +  | +  | +  | +          | +  | +  | +  |
| <i>Trichoderma</i>      | +                                  | +  | +  | +  | +      | +  | +  | +  | +     | +  | -  | +  | +          | +  | +  | +  |
| <i>Aspergillus</i>      | +                                  | +  | +  | +  | +      | +  | +  | +  | +     | +  | +  | +  | +          | +  | +  | +  |
| <i>Scedosporium</i>     | +                                  | +  | +  | +  | +      | -  | -  | -  | +     | +  | -  | -  | +          | +  | -  | -  |
| <i>Bipolaris</i>        | +                                  | +  | +  | +  | +      | -  | -  | -  | +     | +  | +  | +  | +          | +  | -  | -  |
| <i>Neurospora</i>       | +                                  | +  | +  | -  | -      | +  | -  | -  | +     | +  | +  | -  | +          | +  | +  | +  |
| <i>Mucor</i>            | +                                  | +  | +  | +  | +      | +  | +  | +  | +     | +  | -  | -  | +          | +  | +  | +  |
| <i>Rhizomucor</i>       | +                                  | +  | -  | -  | +      | +  | +  | +  | +     | +  | +  | +  | +          | +  | +  | +  |
| <i>Rhizopus</i>         | +                                  | +  | +  | +  | +      | +  | +  | +  | +     | +  | +  | -  | +          | +  | +  | +  |
| <i>Absidia</i>          | +                                  | +  | -  | +  | +      | -  | -  | -  | +     | +  | -  | +  | +          | +  | +  | +  |
| <i>Alternaria</i>       | -                                  | +  | -  | -  | +      | +  | -  | -  | +     | +  | -  | -  | +          | +  | +  | -  |
| <i>Fusarium</i>         | -                                  | -  | -  | +  | +      | +  | +  | +  | +     | +  | +  | +  | +          | +  | +  | +  |
| <i>Acremonium</i>       | +                                  | +  | +  | +  | -      | +  | -  | -  | +     | +  | +  | +  | +          | +  | +  | -  |
| <i>Scytalidium</i>      | +                                  | +  | -  | -  | +      | +  | +  | +  | -     | +  | -  | -  | +          | +  | -  | +  |
| Richesse spécifique (S) | 12                                 | 13 | 9  | 10 | 12     | 10 | 7  | 7  | 13    | 14 | 8  | 8  | 14         | 14 | 11 | 10 |

+ ou - : présence ou absence de moisissure dans une bananeraie donnée ; A1 Daloa : association entre bananier et caféier ; A2 Daloa : association entre bananier et cacaoyer ; A1 et A2 Vavoua : associations entre bananier, anacardier et cultures maraîchères (gombo, piment) ; A1 Issia : association entre bananier et caféier ; A2 Issia : association entre bananier et cacaoyer ; A1 et A2 Zoukougbeu : associations entre bananier et cacaoyer ; M1 et M2 : monocultures de bananier

### 3.1.2.3.3. Abondance relative des genres des départements

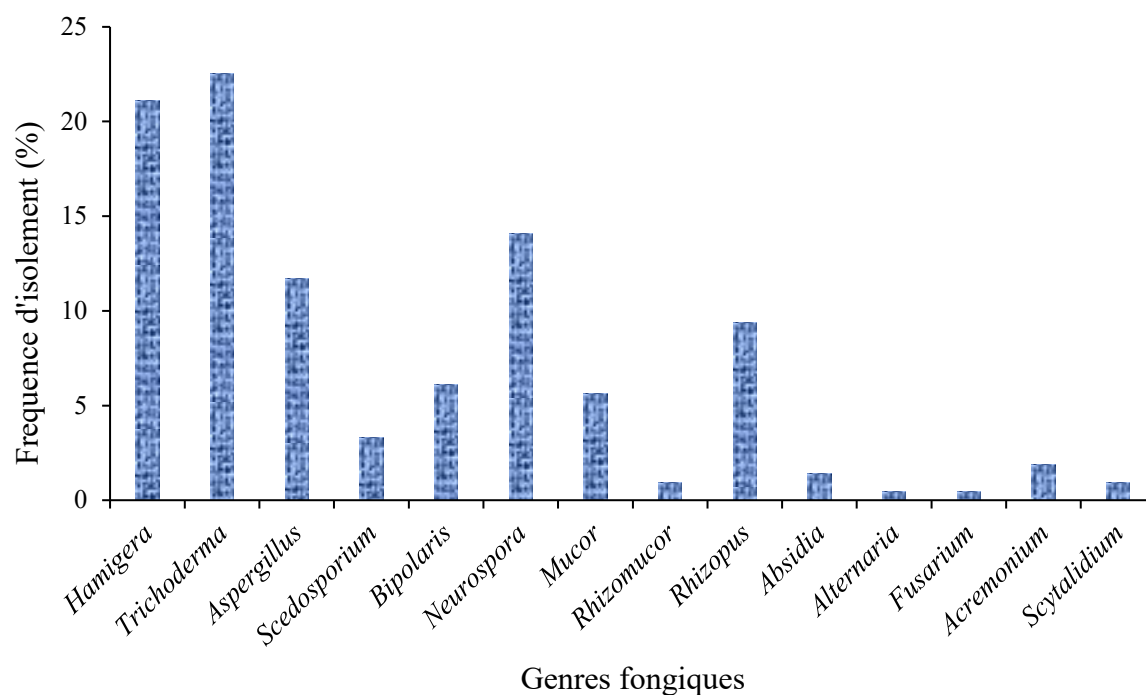
Les fréquences d'isolement des champignons à partir d'échantillons de sol dans chaque département révèlent des variations significatives.

Dans le département de Daloa, les genres *Trichoderma* et *Hamigera* ont prédominé avec des fréquences d'isolement respectives de 22,54 % et 21,12 %, suivis par *Neurospora* (14,08 %), *Aspergillus* (11,73 %) et *Rhizopus* (9,38 %). Les genres *Bipolaris* et *Mucor* ont apparu avec des fréquences d'environ 6 % tandis que *Scedosporium*, *Rhizomucor*, *Absidia*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Acremonium* et *Scytalidium* ont été isolés avec des fréquences inférieures à 4 % (Figure 23).

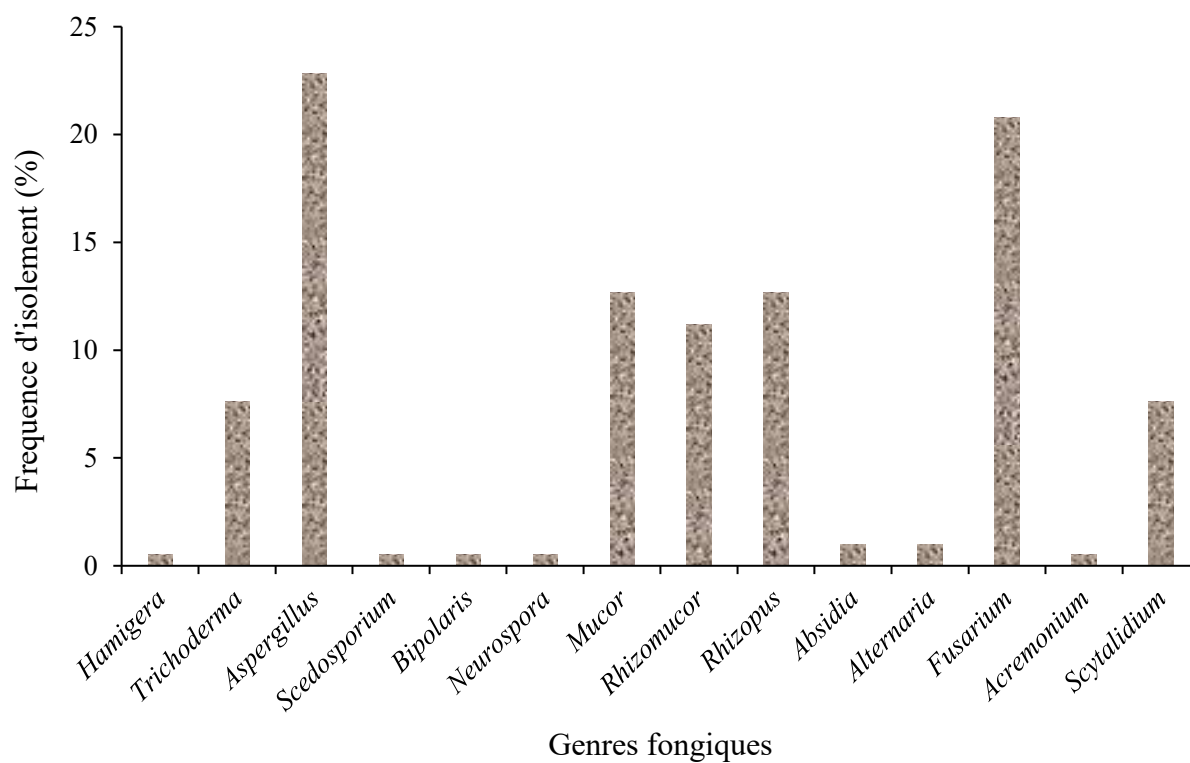
Dans le département de Vavoua, *Aspergillus* et *Fusarium* ont été les plus fréquents, avec des taux d'isolement respectifs de 22,84 % et 20,81 %, suivis par *Mucor* et *Rhizopus* (12,69 %). Les genres *Rhizomucor*, *Trichoderma*, et *Scytalidium* ont été retrouvés avec des taux supérieurs à 7 % tandis que *Hamigera*, *Scedosporium*, *Bipolaris*, *Neurospora*, *Absidia*, *Alternaria* et *Acremonium* ont été isolés avec des fréquences autour de 1 % (Figure 24).

Au niveau du département de Issia, une prédominance a été observée pour le genre *Hamigera* avec une fréquence d'isolement de 22,96 % dans toutes les bananeraies. Ce genre est suivi par *Aspergillus*, *Trichoderma* et *Neurospora* qui ont présenté des fréquences d'isolement supérieures à 10 %. Enfin, *Scedosporium*, *Bipolaris*, *Rhizomucor*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Absidia*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Acremonium* et *Scytalidium* ont été faiblement isolés, avec des fréquences inférieures à 10 % (Figure 25).

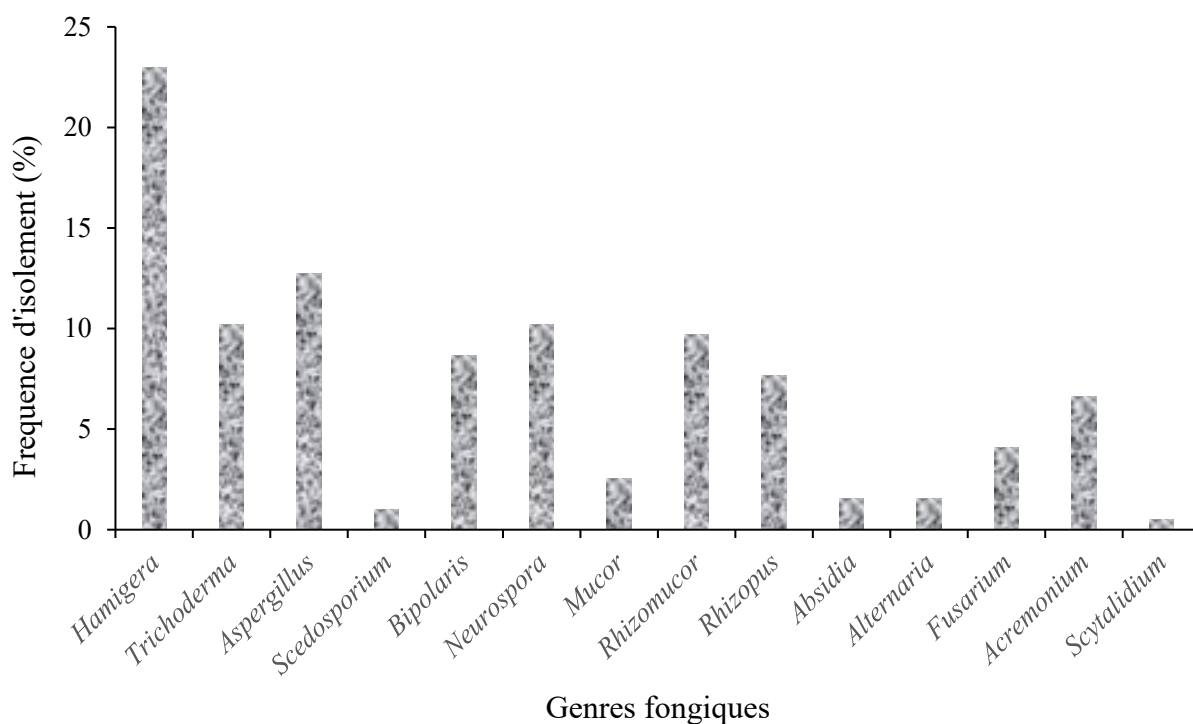
A Zoukougbeu, les genres *Trichoderma*, *Neurospora* et *Hamigera* ont été isolés avec des fréquences supérieurs à 15 % tandis que *Aspergillus*, *Mucor* et *Rhizomucor* ont présenté des fréquences inférieures à 10 %. Quant aux genres *Scedosporium*, *Bipolaris*, *Rhizopus*, *Absidia*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Acremonium* et *Scytalidium*, ils ont été isolés avec des fréquences inférieures à 5 % (Figure 26).



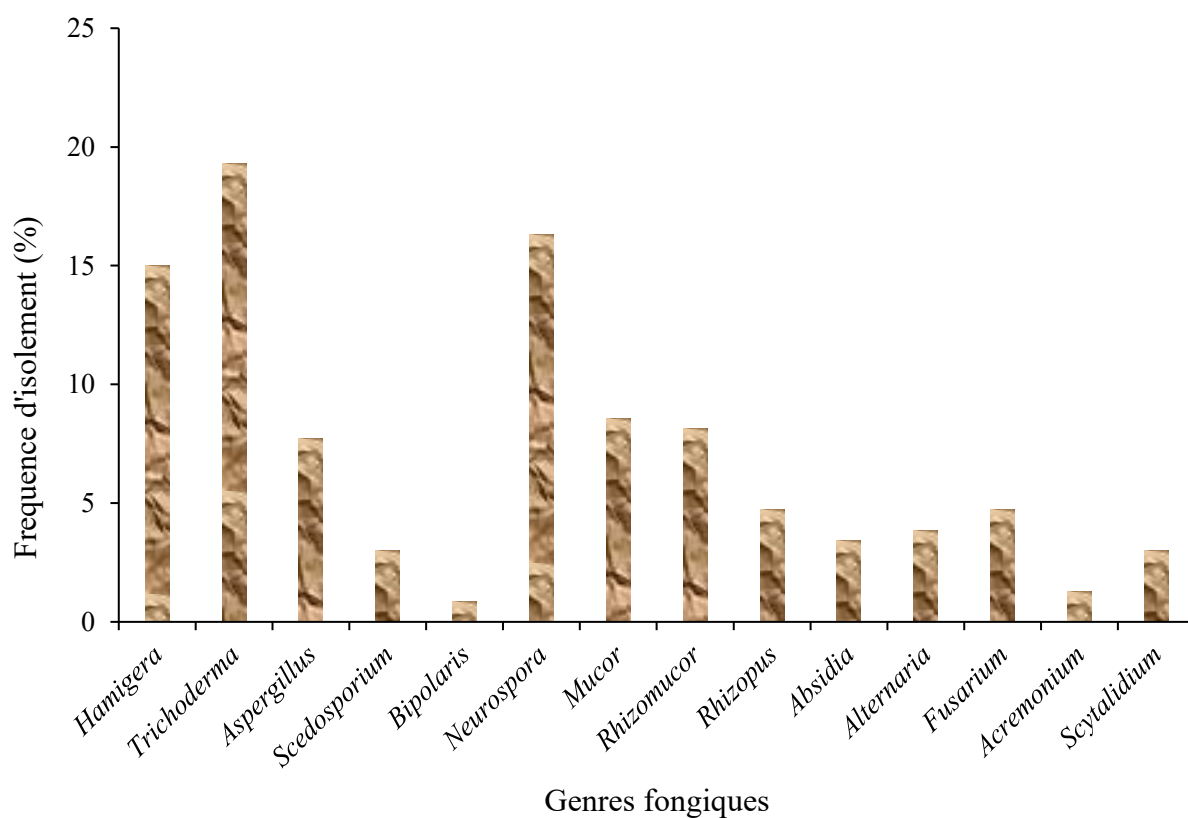
**Figure 23 :** Fréquence d'isolement des champignons dans le département de Daloa



**Figure 24:** Fréquence d'isolement des champignons dans le département de Vavoua



**Figure 25 :** Fréquence d'isolement des champignons dans le département de Issia



**Figure 26 :** Fréquence d'isolement des champignons dans le département de Zoukougbeu

### 3.1.2.3.4. Indices de diversité écologique en fonction des départements

Le tableau XXIV illustre la diversité des genres de champignons dans la rhizosphère des bananiers à travers différents départements de la région du Haut-Sassandra. Les résultats ont montré des variations significatives dans la richesse et la répartition des champignons au sein de cette rhizosphère. L'indice de diversité de Shannon, a varié de 2,02 à 2,35, montrant ainsi une diversité fongique relativement élevée dans tous les départements, avec Zoukougbeu ( $H' = 2,35$ ) et Issia ( $H' = 2,31$ ) affichant les valeurs les plus élevées. Quant à l'indice d'équitabilité de Pielou, allant de 0,77 à 0,89, il a révélé une répartition plutôt équilibrée des genres fongiques, avec Zoukougbeu ( $E = 0,89$ ) et Issia ( $E = 0,87$ ) ayant les indices les plus élevés. En comparaison, Daloa ( $H' = 2,13$  avec un indice d'équitabilité de 0,81) et Vavoua ( $H' = 2,02$  avec un indice de 0,77) ont montré une diversité élevée mais une répartition des genres plus inégale.

**Tableau XXIV** : Indices de diversité en genre de micromycètes de la rhizosphère des bananiers

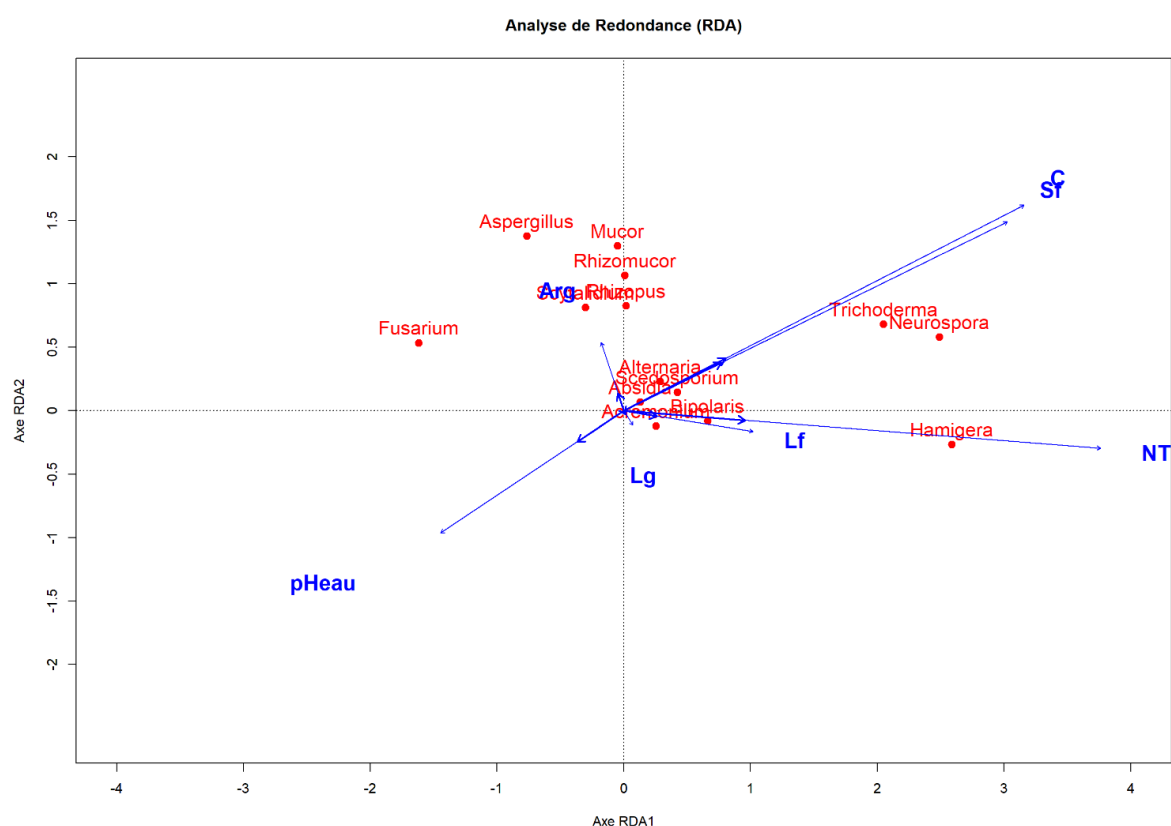
| Département | Diversité maximale<br>(Hmax) | Indice de diversité<br>de Shannon ( $H'$ ) | Indice d'équitabilité<br>de Pielou (E) |
|-------------|------------------------------|--------------------------------------------|----------------------------------------|
| Daloa       | $2,64 \pm 0,0$               | $2,13 \pm 0,9$                             | $0,81 \pm 0,08$                        |
| Vavoua      | $2,64 \pm 0,0$               | $2,02 \pm 0,03$                            | $0,77 \pm 0,01$                        |
| Issia       | $2,64 \pm 0,0$               | $2,31 \pm 0,7$                             | $0,87 \pm 0,03$                        |
| Zoukougbeu  | $2,64 \pm 0,0$               | $2,35 \pm 0,75$                            | $0,89 \pm 0,0$                         |

### 3.1.2.4. Variation de l'abondance relative des champignons

#### 3.1.2.4.1. Variation de l'abondance relative des champignons en fonction des propriétés physico-chimiques des sols

Les analyses de redondance (RDA) ont montré que la corrélation entre les propriétés physico-chimiques et l'abondance des genres fongiques était principalement tenue par les deux premiers axes (Figure 27). Les variables influençant fortement la répartition des champignons étudiés dans les sols rhizosphériques étaient les teneurs en carbone (C), en azote (N), le pH, ainsi que les proportions en argiles (Arg), en limons grossiers (Lg), en limons fins (Lf) et en sables fins (Sf). L'ordination en RDA, selon l'axe factoriel 1, a révélé une corrélation positive entre l'abondance des genres *Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizomucor*, *Rhizopus*, *Scytalidium* et la proportion en argiles. Quant à l'axe 2, il a montré que l'abondance des genres *Alternaria*, *Scedosporium*, *Absidia*, *Bipolaris*, *Acremonium*, *Trichoderma*, *Neurospora* et *Hamigera*, ainsi que les teneurs en carbone (C), en azote (N), les proportions en sables fins (Sf) et en limons

fins (Lf), étaient positivement corrélés. Enfin, *Fusarium* et le pH était négativement corrélés avec cet axe (axe 2).

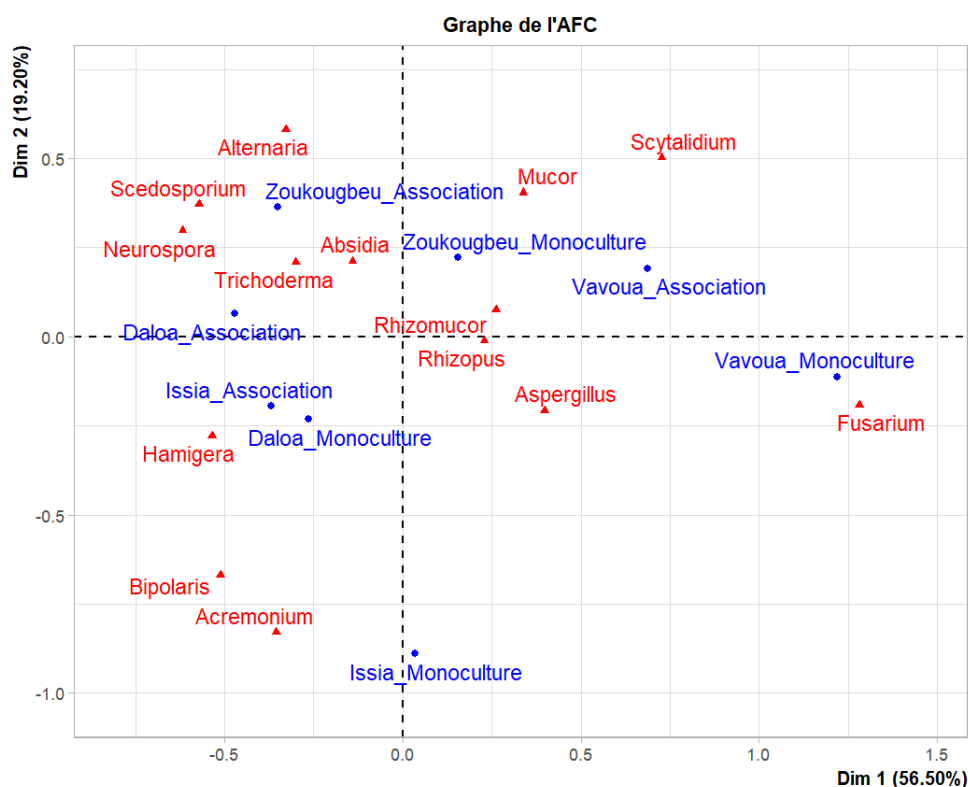


**Figure 27** : Analyse de redondance (RDA) montrant les relations entre les propriétés physico-chimiques des sols et l'abondance des champignons rhizosphériques

### 3.1.2.4.2. Variation de l'abondance relative des champignons en fonction des systèmes culturaux

L'Analyse Factorielle des Correspondances (AFC) a montré que la corrélation entre les systèmes culturaux et l'abondance des genres fongiques étaient principalement tenue par les deux premiers axes (75,70 % de la variance totale) (Figure 28). Selon l'ordination en AFC, dans les systèmes d'associations culturales de la zone de Zoukougbeu et de ceux de Daloa, les champignons *Trichoderma*, *Neurospora*, *Absidia*, *Scedosporium* et *Alternaria* ont été les plus abondants. *Hamigera* a été fréquemment retrouvé dans les associations culturales de bananeraie de la zone de Issia et les monocultures de la zone de Daloa. Les genres *Bipolaris* et *Acremonium* ont été davantage retrouvés dans les monocultures de la zone de Issia. Les champignons *Mucor*, *Scytalidium*, *Rhizomucor*, *Rhizopus* et *Aspergillus* ont été retrouvés en grande quantité dans les monocultures de la zone de Zoukougbeu et les associations de la

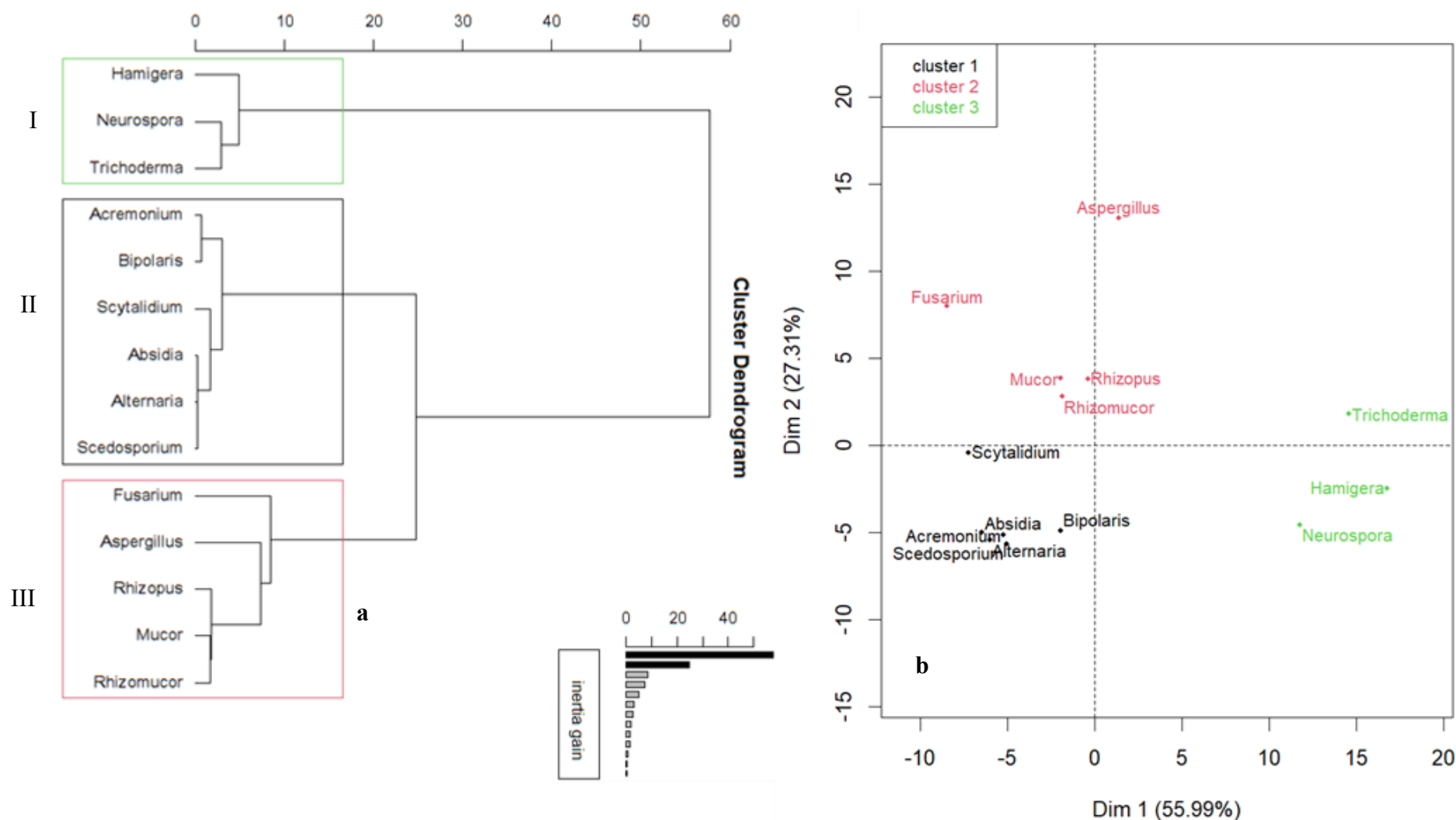
localité de Vavoua. Quant à *Fusarium*, il a été le plus fréquemment observé dans les monocultures de la zone de Vavoua.



**Figure 28** : Analyse AFC montrant les relations entre les systèmes culturaux et l'abondance des champignons rhizosphériques

### 3.1.2.5. Interaction entre champignons rhizosphériques

L'analyse du plan factoriel a indiqué que l'interaction entre les champignons rhizosphériques était principalement tenue par les deux premiers axes (83,3 % de la variance totale) (Figure 29). Le dendrogramme issu de l'analyse a indiqué trois groupes distincts de champignons. D'abord, un premier groupe (I) a renfermé les champignons *Hamigera*, *Neurospora* et *Trichoderma* qui interagissaient entre eux. Ensuite, un deuxième groupe (II) composé des genres *Acremonium*, *Bipolaris*, *Scytalidium*, *Absidia*, *Alternaria* et *Scedosporium* a présenté également des interactions entre les différents genres. Enfin, un troisième groupe (III) a inclus les genres *Fusarium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Mucor* et *Rhizomucor* qui interagissaient entre eux.



**Figure 29** : Plan factoriel et dendrogramme indiquant les interactions entre les champignons rhizosphériques

a : Classification hiérarchique ; b : Plan factoriel

### 3.1.3. Champignons antagonistes des pathogènes du plantain

#### 3.1.3.1. Agents de biocontrôle et champignons pathogènes du bananier

##### 3.1.3.1.1. Champignons rhizosphériques potentiels agents de biocontrôle ou pathogènes du bananier

A partir des caractères macroscopiques et microscopiques cinq genres des isolats ont été identifiés comme étant des potentiels agents de biocontrôle ou pathogènes du bananier. Il s'agit des genres *Trichoderma* qui a regroupé les isolats A7E, A12, A12E, A15, A29, A30, D5, D6, I3, V4, A21 et I4, *Neurospora* qui a renfermé l'isolat A20, *Aspergillus* qui a regroupé les isolats A1, A13E et I6, *Hamigera* qui a renfermé les isolats A11E et A6 et *Fusarium* qui a regroupé les isolats A14E, A27 et A40.

Le séquençage et le BLAST nucléotidique effectué à partir du GenBank ont révélé que les isolats A7E, A12, A30 et D5 appartenaient à l'espèce *Trichoderma longibrachiatum* avec une similarité de plus de 98 %. Aussi, les champignons A12E, A15, A29, D6, I3 et V4 appartenaient à l'espèce *Trichoderma ghanense* avec une similarité de plus de 99 %. En outre, les isolats A21 et I4 appartenaient à *Trichoderma reesei* avec une identité d'environ 100 %. La souche A20 appartenait à *Neurospora dictyophora* avec un pourcentage d'identité de 98,53 %. Les analyses ont également indiqué que les moisissures A1, A13E et I6 appartenaient respectivement à *Aspergillus fischeri*, *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus spinosus* avec des pourcentages de similarité de plus de 99 %. Les isolats A6 et A11E ont quant à eux présenté une similarité d'environ 99 % à *Hamigera terricola*. Enfin, les souches A14E, A27 et A40 appartenaient à *Fusarium falciforme* avec un pourcentage d'identité d'environ 100 % (Tableau XXV).

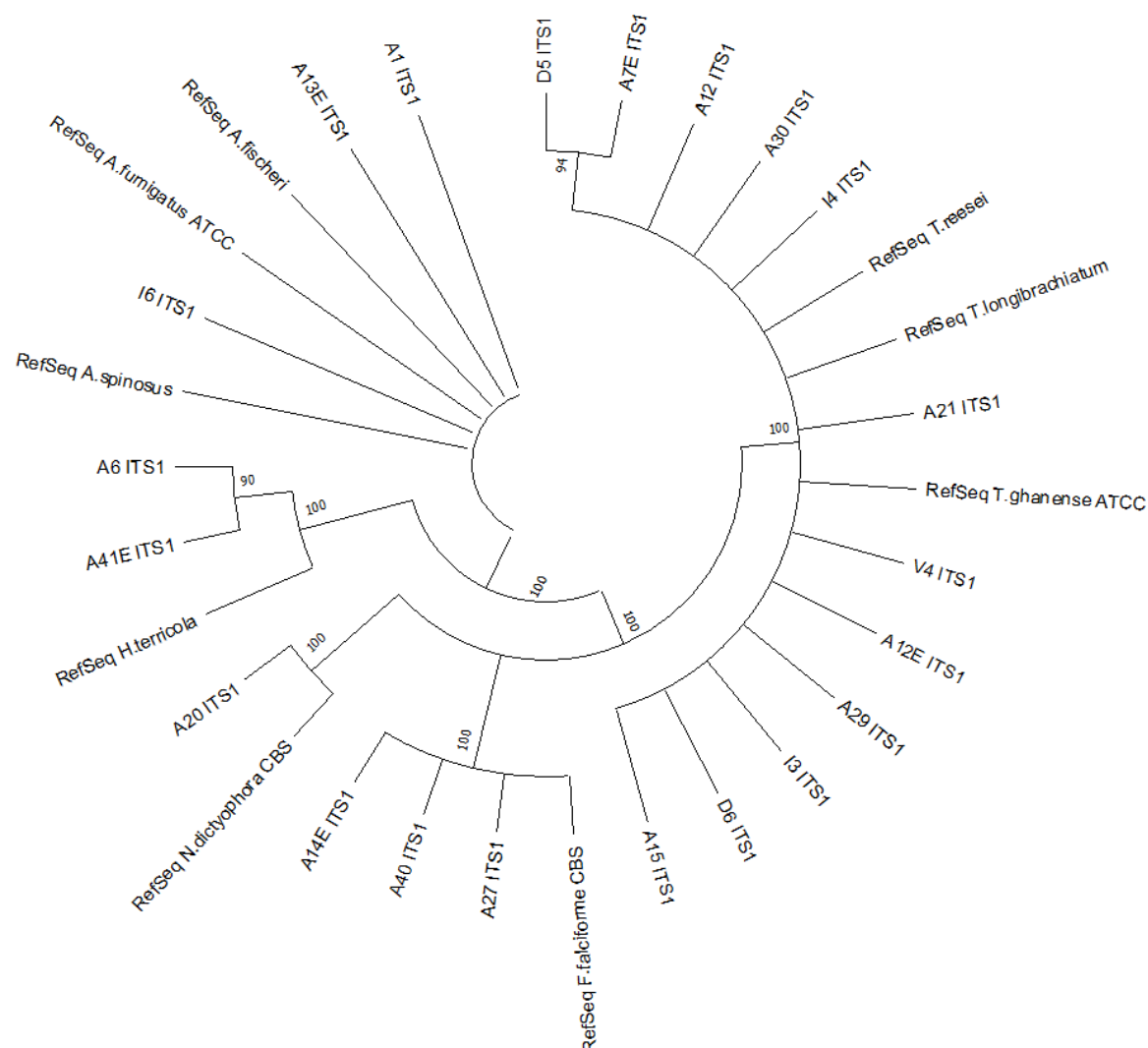
L'assemblage des séquences nucléotidiques de ces espèces fongiques a permis de construire un arbre phylogénétique avec des séquences de référence spécifiques (Figure 30). L'arbre obtenu a permis de regrouper les différentes espèces en cinq classes distinctes. La première classe regroupait les isolats A1, A13E et I6 avec une similarité de 100 %. Il s'agit respectivement des espèces *Aspergillus fischeri*, *A. fumigatus* et *A. spinosus*. La deuxième classe, incluant les isolats A6 et A11E a montré une similarité de 90 % entre ces isolats et de 100 % avec l'espèce *Hamigera terricola*. Le troisième groupe, constitué de l'isolat A20, a présenté une similarité de 100 % avec *Neurospora dictyophora*. Le quatrième groupe, comprenant A14E, A40 et A27 a montré des similarités de 100 % avec *Fusarium falciforme*. Enfin, le cinquième groupe a renfermé les isolats A7E, A12, A30, D5, A12E, A15, A29, D6, V4, I3, A21 et I4. Au sein de ce groupe, les isolats D5 et A7E se sont rapprochés de l'espèce *Trichoderma longibrachiatum* (94 % de similarité). Mais, les isolats les plus similaires à cette

espèce étaient ceux codés, A12 et A30 avec un pourcentage d'identité de 100 %. De plus les espèces A21 et I4 ont montré une similarité de 100 % avec *Trichoderma reesei*. Quant aux isolats A12E, A15, A29, D6, I3 et V4, ils étaient similaires à *Trichoderma ghanense* (100 % de similarité). De façon générale les groupes 1 et 2 étaient plus proches. Cependant, les groupes 3, 4 et 5 comprenant respectivement les espèces de *Neurospora*, *Fusarium* et *Trichoderma*, formaient un clade plus proche les uns des autres.

Parmi les espèces identifiées, neuf (09) espèces appartenant aux genres antagonistes selon la littérature ont été choisies pour les tests d'antagonisme. Il s'agit des isolats A12 et A30 de *Trichoderma longibrachiatum*, A12E et A29 de *Trichoderma ghanense*, A21 et I4 de *Trichoderma reesei*, A6 et A11E de *Hamigera terricola* et A20 de *Neurospora dictyophora*. Quant aux pathogènes, trois (03) espèces ont été sélectionnées selon la littérature. Ces espèces ont été utilisées pour les tests de confrontations, à savoir les isolats A13E (*Aspergillus fumigatus*), I6 (*Aspergillus spinosus*) et A40 (*Fusarium falciforme*).

**Tableau XXV** : Espèces fongiques issues du Blast de séquences ITS des champignons rhizosphériques

| Code | Accessions | Espèces identifiées                | Couverture | Valeur prévue | Pourcentage d'identité |
|------|------------|------------------------------------|------------|---------------|------------------------|
| A1   | NR137479.1 | <i>Aspergillus fischeri</i>        | 99 %       | 0,0           | 99,64 %                |
| A6   | NR137735.1 | <i>Hamigera terricola</i>          | 99 %       | 0,0           | 99,44 %                |
| A7E  | NR120298.1 | <i>Trichoderma longibrachiatum</i> | 99 %       | 0,0           | 98,99 %                |
| A12  | NR120298.1 | <i>Trichoderma longibrachiatum</i> | 99 %       | 0,0           | 98,83 %                |
| A12E | NR120299.1 | <i>Trichoderma ghanense</i>        | 99 %       | 0,0           | 99,83 %                |
| A13E | NR121481.1 | <i>Aspergillus fumigatus</i>       | 98 %       | 0,0           | 99,64 %                |
| A14E | NR164424.1 | <i>Fusarium falciforme</i>         | 99 %       | 0,0           | 99,81 %                |
| A15  | NR120299.1 | <i>Trichoderma ghanense</i>        | 99 %       | 0,0           | 99,67 %                |
| A20  | NR163513.1 | <i>Neurospora dictyophora</i>      | 99 %       | 0,0           | 98,53 %                |
| A21  | NR120297.1 | <i>Trichoderma reesei</i>          | 97 %       | 0,0           | 100,00 %               |
| A27  | NR164424.1 | <i>Fusarium falciforme</i>         | 99 %       | 0,0           | 100,00 %               |
| A29  | NR120299.1 | <i>Trichoderma ghanense</i>        | 99 %       | 0,0           | 99,83 %                |
| A30  | NR120298.1 | <i>Trichoderma longibrachiatum</i> | 98 %       | 0,0           | 99,16 %                |
| A40  | NR164424.1 | <i>Fusarium falciforme</i>         | 99 %       | 0,0           | 99,81 %                |
| A11E | NR137735.1 | <i>Hamigera terricola</i>          | 98 %       | 0,0           | 99,63 %                |
| D5   | NR120298.1 | <i>Trichoderma longibrachiatum</i> | 98 %       | 0,0           | 99,15 %                |
| D6   | NR120299.1 | <i>Trichoderma ghanense</i>        | 97 %       | 6e-118        | 99,57 %                |
| I3   | NR120299.1 | <i>Trichoderma ghanense</i>        | 98 %       | 0,0           | 99,83 %                |
| I4   | NR120297.1 | <i>Trichoderma reesei</i>          | 99 %       | 0,0           | 99,83 %                |
| I6   | NR137489.1 | <i>Aspergillus spinosus</i>        | 99 %       | 0,0           | 99,82 %                |
| V4   | NR120299.1 | <i>Trichoderma ghanense</i>        | 98 %       | 0,0           | 99,66 %                |



**Figure 30 :** Arbre phylogénétique des champignons de la rhizosphère des bananiers

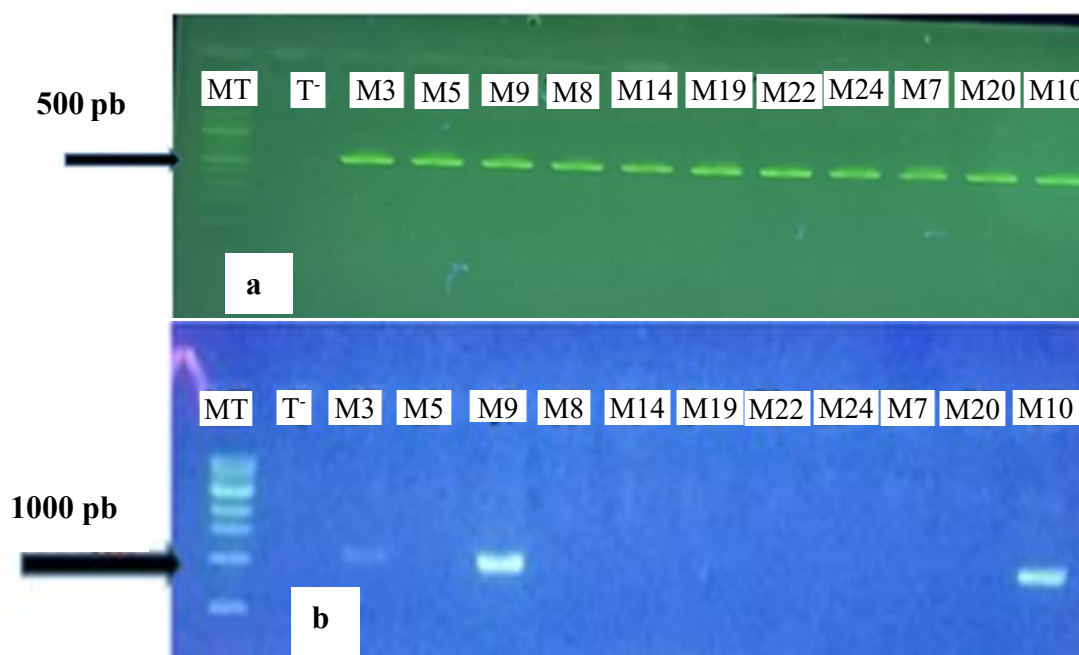
### 3.1.3.1.2. Caractéristiques de *Mycosphaerella fijiensis*, agent causal de la cercosporiose noire du bananier

Les caractéristiques des champignons isolés des surfaces foliaires des bananiers sont résumées dans le tableau XXVI. Au total, 24 champignons de morphotypes différents ont été isolés. Parmi ces champignons, 11 isolats (M3, M5, M7, M8, M9, M10, M14, M19, M20, M22 et M24) présentant des caractères phénotypiques semblables à *Mycosphaerella fijiensis* ont fait l'objet d'études moléculaires. Après amplification avec les amorces universelles ITS1 et ITS4 toutes les souches ont été confirmées comme étant des champignons par la taille des amplicons d'environ 600 pb (Figure 31a). En revanche, l'amplification du gène 5,8 S avec le couple d'amorces spécifiques MF137 et R635 a révélé un amplicon d'environ 966 pb uniquement pour les souches M9 et M10. Les autres souches n'ont pas donné de produits amplifiés pour ce gène

(Figure 31b). Ainsi, les souches M9 et M10 ont été confirmées comme étant *Mycosphaerella fijiensis*. L'isolat M10 a été choisi pour la suite de ce travail. Au niveau phénotypique, ce champignon a présenté une colonie de couleur blanc-verdâtre avec un aspect légèrement bombé et des conidies présentant 2 ou 3 septas (Figure 32) pour une vitesse de croissance de 0,50 mm/jour (Tableau XXVI).

**Tableau XXVI :** Caractéristiques phénotypiques des champignons isolés des surfaces foliaires des bananiers

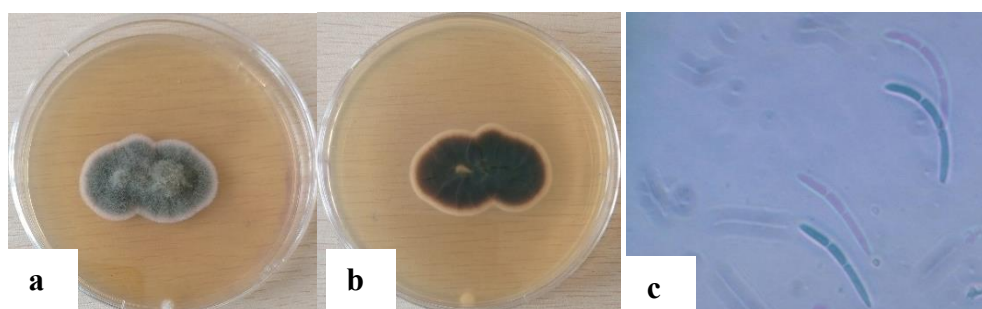
| Souches | Vitesse de croissance<br>(mm/jour) | Aspect           | Couleur        | Nombre de septa<br>des conidies |
|---------|------------------------------------|------------------|----------------|---------------------------------|
| M1      | 1,10 ± 0,14                        | Plat             | Blanchâtre     | Aucun                           |
| M2      | 1,55 ± 0,07                        | Plat             | Verdâtre       | Aucun                           |
| M3      | 0,90 ± 0,14                        | Plat             | Brun-olive     | Aucun                           |
| M4      | 1,05 ± 0,21                        | Plat             | Verdâtre       | Aucun                           |
| M5      | 0,75 ± 0,07                        | Plat             | Grisâtre       | Aucun                           |
| M6      | 1,60 ± 0,14                        | Plat             | Jaunâtre       | Aucun                           |
| M7      | 0,50 ± 0,28                        | Plat             | Blanc-rosâtre  | 1                               |
| M8      | 0,92 ± 0,03                        | Plat             | Jaunâtre       | Aucun                           |
| M9      | 0,70 ± 0,07                        | Légèrement bombé | Brun-olive     | Aucun                           |
| M10     | 0,50 ± 0,04                        | Légèrement bombé | Blanc-verdâtre | 2 à 3                           |
| M11     | 1,72 ± 0,03                        | Plat             | Verdâtre       | Aucun                           |
| M12     | 1,40 ± 0,14                        | Plat             | Grisâtre       | Aucun                           |
| M13     | 1,20 ± 0,14                        | Plat             | Blanchâtre     | Aucun                           |
| M14     | 0,92 ± 0,03                        | Plat             | Blanc-olive    | Aucun                           |
| M15     | 1,37 ± 0,03                        | Plat             | Orangeâtre     | Aucun                           |
| M16     | 1,60 ± 0,07                        | Plat             | Jaunâtre       | Aucun                           |
| M17     | 1,45 ± 0,07                        | Plat             | Rosâtre        | Aucun                           |
| M18     | 1,67 ± 0,03                        | Plat             | Orangeâtre     | Aucun                           |
| M19     | 0,87 ± 0,11                        | Plat             | Jaunâtre       | Aucun                           |
| M20     | 0,80 ± 0,07                        | Plat             | Blanchâtre     | Aucun                           |
| M21     | 1,20 ± 0,07                        | Plat             | Noirâtre       | Aucun                           |
| M22     | 0,87 ± 0,03                        | Plat             | Noirâtre       | Aucun                           |
| M23     | 1,67 ± 0,03                        | Plat             | Jaunâtre       | Aucun                           |
| M24     | 0,80 ± 0,14                        | Plat             | Noirâtre       | Aucun                           |



**Figure 31** : Profil électrophorétique du produit de l'amplification des isolats fongiques

a : Amplification par ITS ; b : Amplification par MF137 et R635

MT : Marqueur de Taille ; T<sup>-</sup> : Témoin négatif



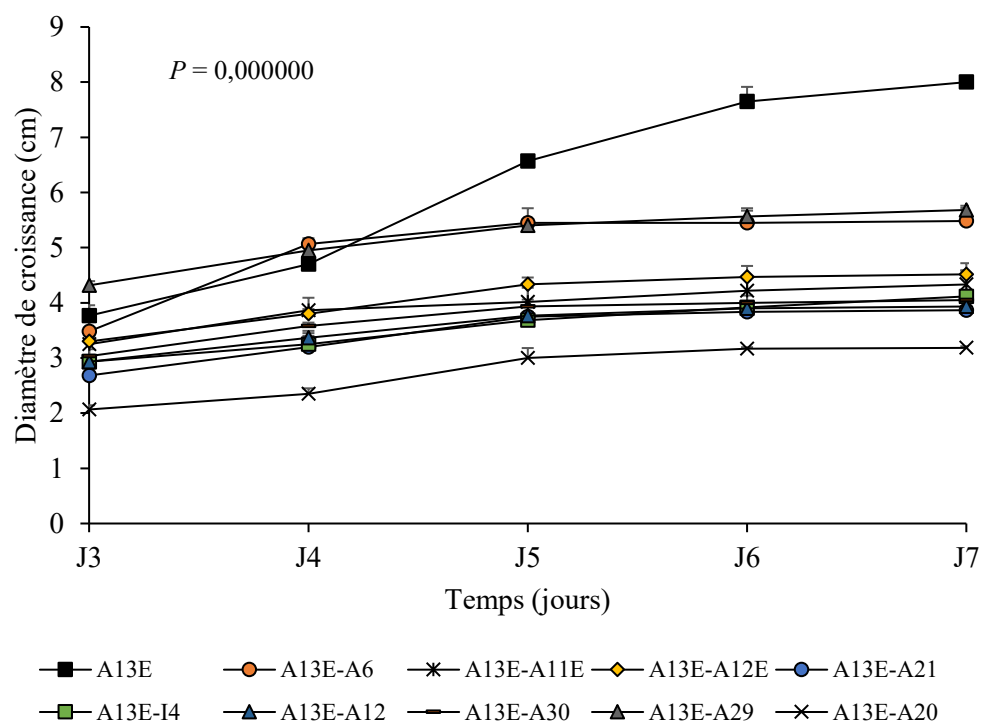
**Figure 32** : Aspects macroscopique et microscopiques de la souche M10 (*Mycosphaerella fijiensis*)

a : face ; b : revers ; c : aspect microscopique

### 3.1.3.2. Activité inhibitrice des souches antagonistes sur les souches pathogènes

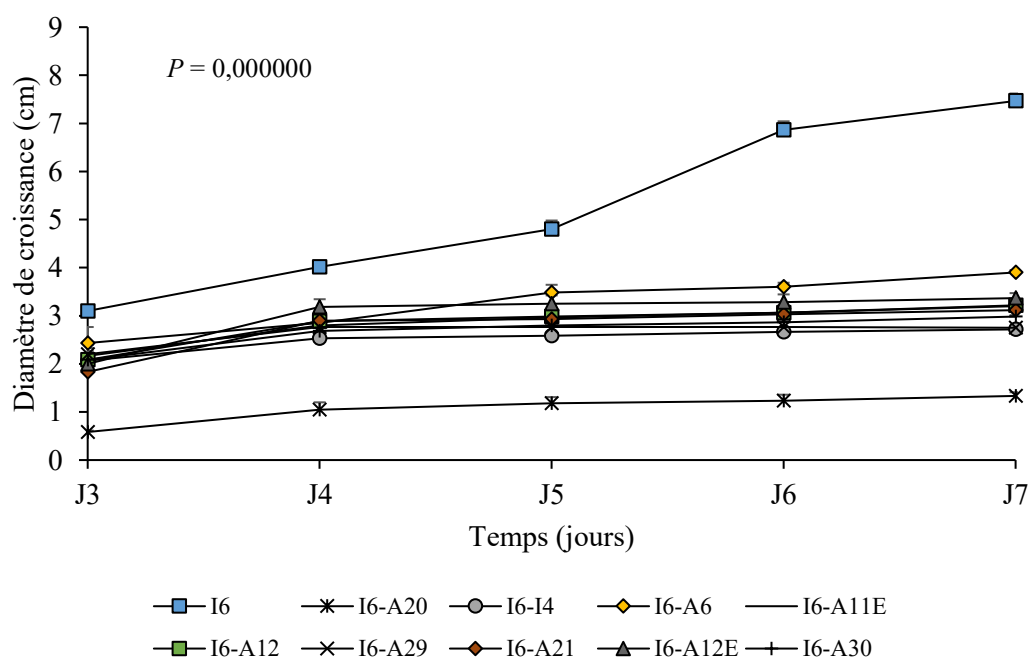
#### 3.1.3.2.1. Evolution de la croissance de *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus spinosus* et *Fusarium falciforme* en présence des antagonistes

Les diamètres moyens de croissance des colonies de *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus spinosus* et *Fusarium falciforme* mis en co-culture en confrontation directe avec les espèces potentiellement antagonistes (*Trichoderma longibrachiatum* (A12, A30), *Trichoderma ghanense* (A12E, A29), *Trichoderma reesei* (A21, I4), *Hamigera terricola* (A11E, A6) et *Neurospora dictyophora* (A20)) isolées des échantillons de sol, sont consignées dans les figures 33, 34 et 35. Ces diverses interactions montrent une réduction de la croissance radiale des colonies de *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus spinosus* et *Fusarium falciforme* par rapport aux témoins. Les confrontations réalisées avec *Hamigera terricola* A6 ont permis d'enregistrer les plus grands diamètres de croissance de *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus spinosus* et *Fusarium falciforme*. Celle réalisée avec *Trichoderma ghanense* A29 a également présenté un plus grand diamètre de croissance de *Aspergillus fumigatus*. Cependant, les plus petits diamètres de croissance de ces pathogènes ont été observés dans les confrontations réalisées avec *Neurospora dictyophora* (A20). Dès le troisième jour des confrontations, ce champignon a envahi toute la boîte de Petri, au détriment des pathogènes. Il s'est ensuite propagé sur ces derniers, provoquant une inhibition marquée de leur croissance mycélienne, sans toutefois entraîner leur destruction totale. En revanche, les autres champignons antagonistes (*Trichoderma ghanense* (A12E, A29), *T. longibrachiatum* (A12, A30), *T. reesei* (A21, I4) et *Hamigera terricola* (A6 et A11E)) ont induit un changement de couleur et une modification de la forme des pathogènes. Ces champignons ont rapidement envahi la boîte de Petri, sans pour autant se développer sur les souches pathogènes (Tableau XXVII).



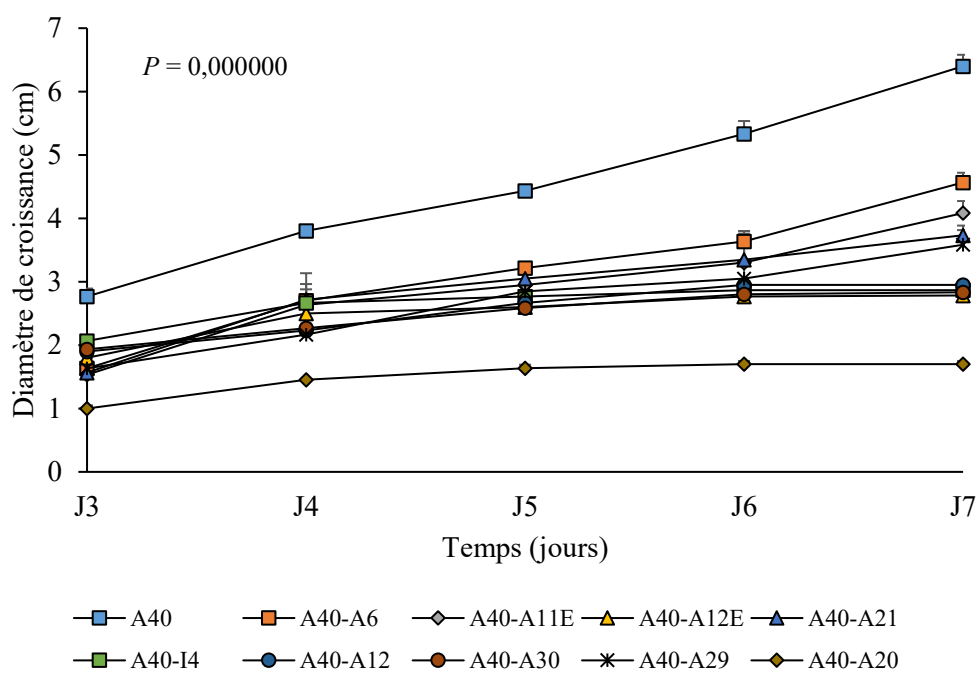
**Figure 33 :** Evolution du diamètre de croissance de *Aspergillus fumigatus* en présence des antagonistes en fonction du temps

A13E : *Aspergillus fumigatus*; A21, I4 : *Trichoderma reesei*; A11E, A6 : *Hamigera terricola*; A12E, A29 : *Trichoderma ghanense*; A12, A30 : *Trichoderma longibrachiatum*; A20 : *Neurospora dictyophora*



**Figure 34 :** Evolution du diamètre de croissance de *Aspergillus spinosus* en présence des antagonistes en fonction du temps

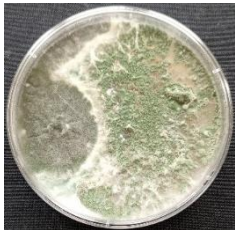
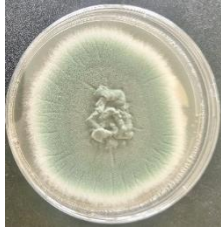
I6 : *Aspergillus spinosus*; A21, I4 : *Trichoderma reesei*; A11E, A6 : *Hamigera terricola*; A12E, A29 : *Trichoderma ghanense*; A12, A30 : *Trichoderma longibrachiatum*; A20 : *Neurospora dictyophora*



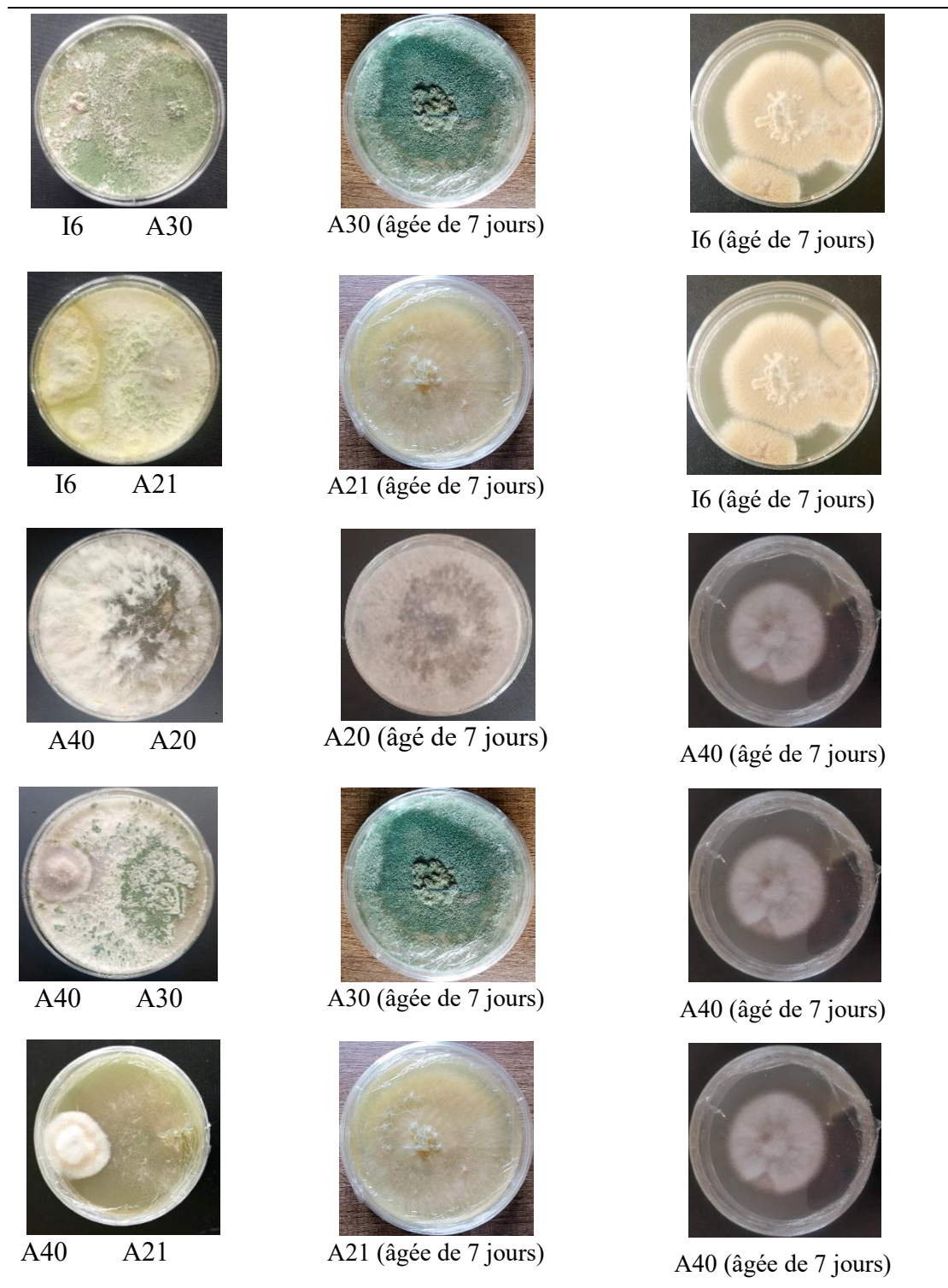
**Figure 35 :** Evolution du diamètre de croissance de *Fusarium falciforme* en présence des antagonistes en fonction du temps

A40 : *Fusarium falciforme* ; A21, I4 : *Trichoderma reesei*; A11E, A6 : *Hamigera terricola* ; A12E, A29 : *Trichoderma ghanense* ; A12, A30 : *Trichoderma longibrachiatum* ; A20 : *Neurospora dictyophora*

**Tableau XXVII** : Photographies de la confrontation directe entre les pathogènes (*Fusarium falciforme*, *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus spinosus*) avec des espèces antagonistes.

| Confrontation                                                                                      | Témoins                                                                                                      |                                                                                                                |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                                                                    | 7 <sup>ème</sup> jour                                                                                        |                                                                                                                |
|                                                                                                    |                                                                                                              |                                                                                                                |
| <br>A13E    A20   | <br>A20 (âgé de 7 jours)    | <br>A13E (âgé de 7 jours)   |
| <br>A13E    A30  | <br>A30 (âgée de 7 jours)  | <br>A13E (âgé de 7 jours)  |
| <br>A13E    A21 | <br>A21 (âgée de 7 jours) | <br>A13E (âgé de 7 jours) |
| <br>I6    A20   | <br>A20 (âgé de 7 jours)  | <br>I6 (âgé de 7 jours)   |

A40: *Fusarium falciforme*; A13E: *Aspergillus fumigatus*; I6: *Aspergillus spinosus*; A21: *Trichoderma reesei*; A20: *Neurospora dictyophora*; A30: *Trichoderma longibrachiatum*



A40: *Fusarium falciforme*; A13E: *Aspergillus fumigatus*; I6: *Aspergillus spinosus*; A21: *Trichoderma reesei*;  
A20: *Neurospora dictyophora*; A30: *Trichoderma longibrachiatum*

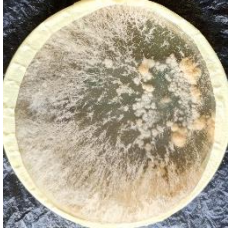
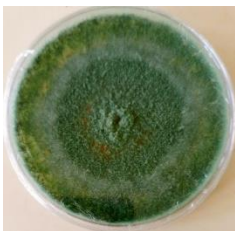
### 3.1.3.2.2. Evolution de la croissance de *Mycosphaerella fijiensis* en présence des antagonistes

Les diamètres moyens de croissance des colonies de *Mycosphaerella fijiensis* (M10) mis en co-culture en confrontation directe avec les souches potentiellement antagonistes (*Neurospora dictyophora* (A20), *Trichoderma ghanense* (A12E), *T. longibrachiatum* (A30), *T. reesei* (A21) et *Hamigera terricola* (A11E)) isolés des échantillons de sol sont consignés dans le tableau XXVIII. Pour la confrontation avec *Neurospora dictyophora* (A20), à partir du 3<sup>ème</sup> jour, cette espèce a recouvert toute la boîte de Petri au détriment de *M. fijiensis* (M10) qui disparaît par la suite complètement à partir du 15<sup>ème</sup> jour de la confrontation. Les espèces *Trichoderma ghanense* (A12E) et *Trichoderma longibrachiatum* (A30) ont empêché le développement du pathogène. Le diamètre moyen de *Mycosphaerella fijiensis* (M10) est resté constant du 1<sup>er</sup> jour jusqu'au 30<sup>ème</sup> jour de la confrontation (diamètre = 1,25 cm). Les confrontations réalisées avec *Trichoderma reesei* (A21) et *Hamigera terricola* (A11E) n'ont pas empêché la croissance de *Mycosphaerella fijiensis* (M10). En effet, du 1<sup>er</sup> au 10<sup>ème</sup> jours il a été constaté une augmentation de la croissance radiale de la souche de *Mycosphaerella fijiensis* (M10) de 1,25 à 1,7 cm. Par contre, du 10<sup>ème</sup> au 30<sup>ème</sup> jours il n'a plus été constaté d'augmentation de croissance de cette souche. En outre, au cours de ces confrontations les antagonistes (*Trichoderma ghanense* (A12E), *T. longibrachiatum* (A30), *T. reesei* (A21) et *Hamigera terricola* (A11E)) ont induit un changement de couleur et une modification de la forme de la colonie de *Mycosphaerella fijiensis* (M10) (Tableau XXIX).

**Tableau XXVIII** : Evolution du diamètre de croissance de *Mycosphaerella fijiensis* (M10) en fonction du temps en présence de cinq (05) antagonistes (en cm)

| Confrontation | Jour 1 | Jour 5 | Jour 10 | Jour 15 | Jour 20 | Jour 25 | Jour 30 |
|---------------|--------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|
| M10 (témoin)  | 1,25   | 1,5    | 1,8     | 2,1     | 2,3     | 2,5     | 2,7     |
| M10 vs A20    | 1,25   | 1,25   | 0,9     | 0       | 0       | 0       | 0       |
| M10 vs A12E   | 1,25   | 1,25   | 1,25    | 1,25    | 1,25    | 1,25    | 1,25    |
| M10 vs A30    | 1,25   | 1,25   | 1,25    | 1,25    | 1,25    | 1,25    | 1,25    |
| M10 vs A21    | 1,25   | 1,4    | 1,7     | 1,7     | 1,7     | 1,7     | 1,7     |
| M10 vs A11E   | 1,25   | 1,5    | 1,7     | 1,7     | 1,7     | 1,7     | 1,7     |

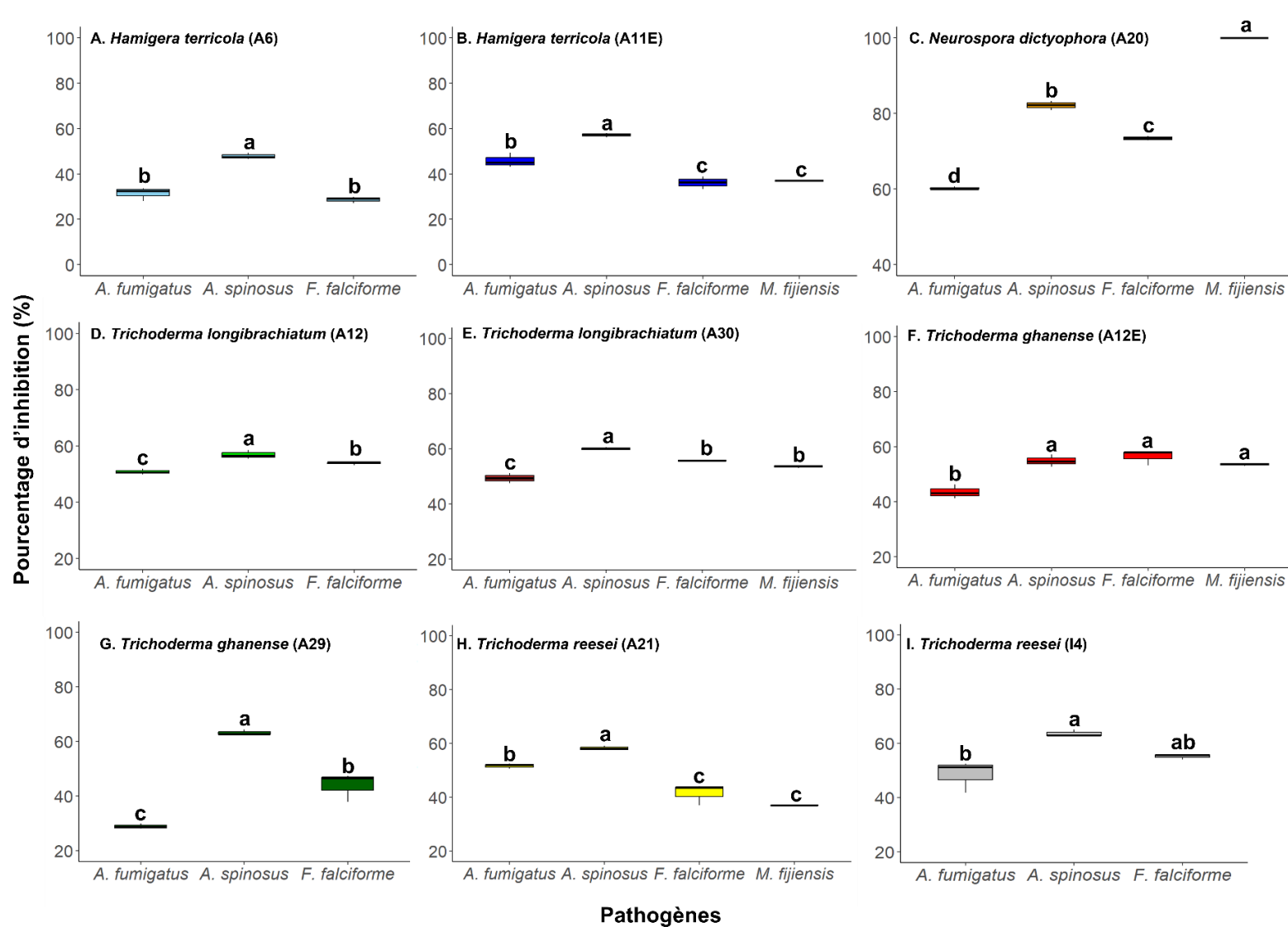
**Tableau XXIX :** Photographies de la confrontation directe entre *Mycosphaerella fijiensis* (M10) et les souches antagonistes

| Confrontation<br>30 <sup>ème</sup> jour                                             |               | Témoins                                                                             |                                                                                      |
|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                                                     |               | Contrôle (+)                                                                        | Contrôle (-)                                                                         |
|    | M10      A20  |    |    |
|                                                                                     |               | A20 (âgée de 7 jours)                                                               |                                                                                      |
|    | M10      A30  |    |    |
|                                                                                     |               | A30 (âgée de 7 jours)                                                               | M10 (âgée de 30 jours)                                                               |
|  | M10      A12E |  |  |
|                                                                                     |               | A12E (âgée de 7 jours)                                                              |                                                                                      |
|  | M10      A21  |  |  |
|                                                                                     |               | A21 (âgée de 7 jours)                                                               |                                                                                      |
|  | M10      A11E |  |  |
|                                                                                     |               | A11E (âgée de 7 jours)                                                              |                                                                                      |

M10 : *Mycosphaerella fijiensis* ; A21 : *Trichoderma reesei* ; A11E : *Hamigera terricola* ; A12E: *Trichoderma ghanense* ; A20 : *Neurospora dictyophora* ; A30 : *Trichoderma longibrachiatum*

### 3.1.3.2.3. Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne des souches pathogènes par les antagonistes

Les pourcentages d'inhibition de la croissance radiale des pathogènes *Fusarium falciforme*, *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus spinosus* au 7<sup>ème</sup> jour des confrontations et de *Mycosphaerella fijiensis* au 30<sup>ème</sup> jour des confrontations *in vitro* sont indiqués sur la figure 36. Les souches antagonistes ont entraîné une réduction significative de 28,95 à 60,21 %, de 47,75 à 82,13 %, de 28,64 à 73,44 % et de 37 à 100 % de la croissance radiale respectivement des colonies de *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus spinosus*, *Fusarium falciforme* et *Mycosphaerella fijiensis* par rapport aux témoins (Figure 36). Les souches de *Hamigera terricola* (A11E et A6) ont eu une forte activité inhibitrice sur la colonie de *Aspergillus spinosus* par rapport aux autres pathogènes avec des pourcentages d'inhibition de 47,75 % (A6) et 57,13 % (A11E). Cependant, ces souches antagonistes ont faiblement inhibé les pathogènes *Aspergillus fumigatus*, *Fusarium falciforme* et *Mycosphaerella fijiensis*. Les confrontations réalisées avec *Neurospora dictyophora* ont indiqué une forte inhibition de la croissance radiale de tous les pathogènes. La plus grande activité antifongique de cette souche a été observée sur *Aspergillus spinosus* et *Mycosphaerella fijiensis* avec des pourcentages d'inhibition respectifs de 82,13 % et de 100 %. La souche *Trichoderma ghanense* (A12E) a eu plus d'action inhibitrice sur les pathogènes *Mycosphaerella fijiensis*, *Aspergillus spinosus* et *Fusarium falciforme* avec des pourcentages d'inhibition respectifs de 53,57 %, 54,88 % et 56,46 %. Quant à *Trichoderma ghanense* (A29), sa plus grande activité inhibitrice a été observée uniquement au niveau de *Aspergillus spinosus* (63,18 %). Les croissances radiales des souches de *Trichoderma longibrachiatum* (A12 et A30) ont aussi entraîné une réduction importante de celles des souches pathogènes. En effet, A12 et A30 ont entraîné une réduction de plus de 50 % de la croissance de *Fusarium falciforme*, de *Aspergillus fumigatus*, de *Aspergillus spinosus* et de *Mycosphaerella fijiensis*. Quant aux croissances radiales des souches de *Trichoderma reesei* (A21 et I4), elles ont entraîné une réduction plus ou moins importante de la croissance des souches pathogènes. *Trichoderma reesei* (A21) a eu plus d'effet sur *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus spinosus* avec des pourcentages d'inhibition respectifs de 51,67 % et 58,25 %. Cette souche antagoniste a inhibé faiblement *Mycosphaerella fijiensis* et *Fusarium falciforme* avec des pourcentages d'inhibition respectifs de 37 % et 41,60 %. Cependant, avec *Trichoderma reesei* (I4), les plus grandes activités inhibitrices ont été observées sur *Fusarium falciforme* et *Aspergillus spinosus* avec des pourcentages d'inhibition respectifs de 55,19 % et 63,60 % et la plus faible a été observée avec *Aspergillus fumigatus* soit un pourcentage d'inhibition de 48,54 %.



**Figure 36 :** Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne des pathogènes par les antagonistes au 7<sup>ème</sup> jour

$P = 0,000000$ . Les box plots affectés de la même lettre sont identiques selon le test LSD de Fisher au seuil  $\alpha = 5 \%$ .

### 3.1.3.3. Profils métaboliques de quelques souches antagonistes

Les profils métaboliques des souches antagonistes *Neurospora dictyophora* (A20), *Trichoderma ghanense* (A12E), *T. longibrachiatum* (A30), *T. reesei* (A21) et *Hamigera terricola* (A21) ont été déterminés pour expliquer et justifier leur activité inhibitrice sur les souches pathogènes. Ces profils déterminés à l'aide d'une chromatographie liquide couplée à une spectrophotométrie de masse ont engendré des pics majeurs et mineurs, rejoignant l'intensité des métabolites secrétés. Ces métabolites ont été donc détectés en fonction du temps de rétention de chacun (annexe III). Au total, les souches antagonistes ont produit 56 métabolites, composés de différentes molécules chimiques. Ces métabolites appartenaient principalement aux groupes organiques des acides carboxyliques, des terpénoïdes, des stéroïdes, des acide gras, des phénols, des flavonoïdes, des amides, des triazacyclodécane, des peptides, des sulfonamides, des esters, des disaccharides, des macrolides, des éthers, des sphingosines, des sphingolipides, des diacylglycérols et des lipides.

Dix (10) métabolites, dont trois acides carboxyliques, un terpénoïde, un stéroïde, un ester, un amide, un phénol, un triazacyclodécane et un peptide ont été extraits de la souche de *Hamigera terricola* (A11E) (Tableau XXX). Sept (07) métabolites, incluant trois peptides, un disaccharide, un acide carboxylique, un terpénoïde et un phénol ont été produits par la souche de *Trichoderma longibrachiatum* (A30) (Tableau XXXI). Dix-sept (17) métabolites, parmi lesquels se trouvaient six peptides, trois flavonoïdes, deux terpénoïdes, un macrolide, un phénol, un éther, un ester, une sphingosine et un lipide ont été extraits de la souche de *Trichoderma ghanense* (A12E) (Tableau XXXII). Quant à la souche de *Trichoderma reesei* (A21), huit (08) métabolites, comprenant trois peptides, un terpénoïde, un phénol, un diacylglycérol, un amide et un sphingolipide ont pu être isolés (Tableau XXXIII). Enfin, l'extrait de *Neurospora dictyophora* (A20) a révélé la présence de treize (13) composés, dont trois flavonoïdes, deux esters, deux lipides, un acide carboxylique, un amide, un peptide, un sulfonamide, un acide gras et un sphingolipide (Tableau XXXIV).

**Tableau XXX** : Métabolites isolés de la souche de *Hamigera terricola* (A11E)

| Métabolites                                                                                                                                                        | App.                                 | Groupe             |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|--------------------|
| Acide (2Z)-2-[(E)-6-(hydroxyméthyl)-2,4,8,10-tétraméthylodéc-2-énylidène]-4-méthylpentanedioïque                                                                   |                                      | Acide carboxylique |
| Acide (4aR)-5-hydroxy-6-méthoxy-1,1-diméthyl-7-propan-2-yl-2,3,4,9,10,10a-hexahydrophénanthrène-4a-carboxylique                                                    |                                      | Acide carboxylique |
| Eudesmine                                                                                                                                                          | Eudesm-4(14)-ene                     | Terpénoïde         |
| Acide 5-phénylvalérique                                                                                                                                            | Acide 2-phénylbutanoïque             | Acide carboxylique |
| 24-Éthylepicoprostanol                                                                                                                                             | 24-Éthylepicoprostanol               | Stéroïde           |
| Benzocaïne                                                                                                                                                         | Ethyle aminobenzoate                 | Ester              |
| (2E,4E,12Z)-N-(2-méthylpropyl)octadéca-2,4,12-triénamide                                                                                                           | N-isobutyl-2,4,12-octadécatriénamide | Amide              |
| (1s)-1,5-anhydro-1-[2,4,6-trihydroxy-3-(4-hydroxybenzoyl)phényl]-d-glucitol                                                                                        | KST-1A0671                           | Phénol             |
| (3S,6R,9S,12R,15S,18R)-3-[(2R)-2-Butanyl]-6-isobutyl-9,12,15,18-tétraisopropyl-4,10,16-triméthyl-1,7,13-trioxa-4,10,16-triazacyclooctadécane-2,5,8,11,14,17-hexone | NCGC00386077-01                      | Triazacyclodécane  |
| Enniatine A1                                                                                                                                                       | UNII-39458RI529                      | Peptide            |

App. : appellation commune selon (NIST/Pubchem)

**Tableau XXXI** : Métabolites isolés de la souche de *Trichoderma longibrachiatum* (A30)

| Métabolites                                                                                                                                                                                              | App.                       | Groupe             |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|--------------------|
| cyclo(L-Phe-D-Pro)                                                                                                                                                                                       | cyclo(L-Phe-D-Pro)         | Peptide            |
| Tréhalose                                                                                                                                                                                                | D-Tréhalose                | Disaccharide       |
| Acide (1S,4aS,5S,7aS)-7-(acétyloxyméthyl)-5-hydroxy-1-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxyméthyl)oxan-2-yl]oxy-1,4a,5,7a-tétrahydrocyclopenta[c]pyran-4-carboxylique                            |                            | Acide carboxylique |
| (1R,4S,7R,8S)-7-[(2E,4E)-hexa-2,4-diényl]-3-hydroxy-8-[(2S)-3-hydroxy-2,4-diméthyl-5-oxo-2,5-dihydrofuran-2-yl]-5-[(2E,4E)-1-hydroxyhexa-2,4-diène-1-ylidène]-1,3-diméthylbicyclo[2.2.2]octane-2,6-dione | Trichotétroline            | Terpénoïde         |
| Trichorozine-IV                                                                                                                                                                                          | CHEBI:202367               | Phénol             |
| Enniatine B                                                                                                                                                                                              | 3-N-méthylvaline enniatine | Peptide            |
| Enniatine A                                                                                                                                                                                              | UNII-59877B2B5T            | Peptide            |

App. : appellation commune selon (NIST/Pubchem)

**Tableau XXXII** : Métabolites isolés de la souche de *Trichoderma ghanense* (A12E)

| Métabolites                                                                                                                                             | App.                                                                                                                                                                                                                                                          | Groupe      |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| Trichosporine-B-IIIc                                                                                                                                    | DTXSID80153341                                                                                                                                                                                                                                                | Macrolide   |
| Hypomurocine-A-2                                                                                                                                        | CHEBI:213588                                                                                                                                                                                                                                                  | Peptide     |
| Trichorozine-IV                                                                                                                                         | CHEBI:202367                                                                                                                                                                                                                                                  | Phénol      |
| 3,6,9,12-Tétraoxatétracosan-1-ol                                                                                                                        | Éther monododécylique de tétraéthylène glycol                                                                                                                                                                                                                 | Éther       |
| Angolétine                                                                                                                                              | 1-(2,4-dihydroxy-6-méthoxy-3,5-diméthylphényl)-3-phénylpropan-1-one                                                                                                                                                                                           | Flavonoïde  |
| Picéine                                                                                                                                                 | Améliaroside                                                                                                                                                                                                                                                  | Terpénoïde  |
| Monobéhénine                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                               | Ester       |
| cyclo(L-Val-L-Pro)                                                                                                                                      | cyclo(L-Pro-L-Val)                                                                                                                                                                                                                                            | Peptide     |
| Val-Val                                                                                                                                                 | L-valyl-L-valine                                                                                                                                                                                                                                              | Peptide     |
| cyclo(L-Leu-L-Pro)                                                                                                                                      | (3S,8aS)-3-isobutylhexahydropyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione                                                                                                                                                                                                  | Peptide     |
| cyclo(L-Phe-D-Pro)                                                                                                                                      | cyclo(L-Phe-D-Pro)                                                                                                                                                                                                                                            | Peptide     |
| (3S,6R,9S,12R,15S,18R)-3-butan-2-yl-4,10,16-triméthyl-6,9,12,15,18-penta(propan-2-yl)-1,7,13-trioxa-4,10,16-triazacyclooctadécane-2,5,8,11,14,17-hexone | Enniatine B1                                                                                                                                                                                                                                                  | Peptide     |
| Sarmentoside B                                                                                                                                          | Acétate de [(3 S ,5 S ,10 S ,11 R ,13 R ,14 S ,17 R )-3-(5-acétyloxy-3-hydroxy-4-méthoxy-6-méthylloxan-2-yl)oxy-10-formyl-5,14-dihydroxy-13-méthyl-17-(5-oxo-2 H -furan-3-yl)-2,3,4,6,7,8,9,11,12,15,16,17-dodécahydro-1 H -cyclopenta[a]phénanthrène-11-yle] | Terpénoïde  |
| Phytosphingosine                                                                                                                                        | (2S,3S,4R)-2-amino-octadécane-1,3,4-triol                                                                                                                                                                                                                     | Sphingosine |
| Daidzéine                                                                                                                                               | 7-hydroxy-3-(4-hydroxyphényl)chromène-4-one                                                                                                                                                                                                                   | Flavonoïde  |
| Génistéine                                                                                                                                              | 5,7-dihydroxy-3-(4-hydroxyphényl)chromène-4-one                                                                                                                                                                                                               | Flavonoïde  |
| DGTS 16:0                                                                                                                                               | DGTS (16:0/20:4 (5Z, 8Z, 11Z, 14Z))                                                                                                                                                                                                                           | Lipide      |

App. : appellation commune selon (NIST/Pubchem)

**Tableau XXXIII** : Métabolites isolés de la souche de *Trichoderma reesei* (A21)

| Métabolites                                                                                                                                                                                             | App.                                                         | Groupe         |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|----------------|
| 1R,4S,7R,8S)-7-[(2E,4E)-hexa-2,4-diényl]-3-hydroxy-8-[(2S)-3-hydroxy-2,4-diméthyl-5-oxo-2,5-dihydrofuran-2-yl]-5-[(2E,4E)-1-hydroxyhexa-2,4-diène-1-ylidène]-1,3-diméthylbicyclo[2.2.2]octane-2,6-dione | Trichotétroline                                              | Terpénoïde     |
| Trichorozine-IV                                                                                                                                                                                         | CHEBI:202367                                                 | Phénol         |
| Phytosphingosine                                                                                                                                                                                        | (2S,3S,4R)-2-amino-octadécane-1,3,4-triol                    | Sphingolipide  |
| Hypomurocine-A-2                                                                                                                                                                                        | CHEBI:213588                                                 | Peptide        |
| Cyclo(L-Phe-D-Pro)                                                                                                                                                                                      | cyclo(L-Phe-D-Pro)                                           | Peptide        |
| cyclo(L-Leu-L-Pro)                                                                                                                                                                                      | (3S,8aS)-3-isobutylhexahydropyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione | Peptide        |
| DG(20:4_18:0)                                                                                                                                                                                           | DG(20:4(5Z,8Z,11Z,14Z)/18:0/0:0)                             | Diacylglycérol |
| (2E,4E,12Z)-N-(2-méthylpropyl)octadéca-2,4,12-triénamide                                                                                                                                                | N-isobutyl-2,4,12-octadécatriénamide                         | Amide          |

App. : appellation commune selon (NIST/Pubchem)

**Tableau XXXIV** : Métabolites isolés de la souche de *Neurospora dictyophora* (A20)

| Métabolites                                                                                                                                                | App.                                     | Groupe             |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|--------------------|
| Acide (9Z,12Z,15Z)-octadéca-9,12,15-triénoïque                                                                                                             |                                          | Acide gras         |
| (2E,4E,12Z)-N-(2-méthylpropyl)octadéca-2,4,12-triénamide                                                                                                   | N-isobutyl-2,4,12-octadécatriénamide     | Amide              |
| 3-méthylbut-2-énoate de 2-(7-oxo-2,3-dihydrofuro[3,2-g]chromen-2-yl)propan-2-yle                                                                           |                                          | Ester              |
| Acide (4aR)-5-hydroxy-6-méthoxy-1,1-diméthyl-7-propan-2-yl-2,3,4,9,10,10a-hexahydrophénanthrène-4a-carboxylique                                            |                                          | Acide carboxylique |
| (3R)-3-tétradécanoyloxy-4-(triméthylazaniumyl)butanoate                                                                                                    | Tétradécanoylcarnitine                   | Ester              |
| Acide 2-((4R)-4-((3R,5S,9S,10S,13R,14S,17R)-3-hydroxy-10,13-diméthyl-7-oxohexadécahydro-1H-cyclopenta[a]phénanthrène-17-yl)pentanamido)éthane-1-sulfonique |                                          | Sulfonamides       |
| 5-hydroxy-3-(4-hydroxyphényl)-7-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxyméthyl)oxan-2-yl]oxychromène-4-one                                            | Génistine                                | Flavonoïde         |
| DGTS 16:0                                                                                                                                                  | DGTS (16:0/20:4 (5Z, 8Z, 11Z, 14Z)       | Lipide             |
| DGTS 18:2                                                                                                                                                  | DGTS 2:0-16:2                            | Lipide             |
| cyclo(L-Phe-D-Pro)                                                                                                                                         | cyclo(L-Phe-D-Pro)                       | Peptide            |
| Phytosphingosine                                                                                                                                           | (2S,3S,4R)-2-aminooctadécane-1,3,4-triol | Sphingolipides     |
| Daidzin                                                                                                                                                    | Daidzose                                 | Flavonoïde         |
| Astragaline                                                                                                                                                | Kaempférol 3-O-glucoside                 | Flavonoïde         |

App. : Appellation commune selon (NIST/Pubchem)

### 3.1.3.4. Activité inhibitrice des métabolites totaux des souches antagonistes sur les pathogènes

#### 3.1.3.4.1. Quantité des métabolites totaux extraits des souches antagonistes

Les masses des métabolites obtenues par extraction à l'acétate d'éthyle et au cyclohexane ont varié de 39 mg à 65 mg selon les souches antagonistes (Tableau XXXV). En effet, la masse de métabolites la plus élevée (65 mg), a été obtenue avec la souche A30 (*Trichoderma longibrachiatum*), tandis que A21(*Trichoderma reesei*) a donné la plus faible quantité (39 mg). Les autres souches A20 (*Neurospora dictyophora*), A12E (*Trichoderma ghanense*) et A11E (*Hamigera terricola*), ont produit respectivement 50 mg, 45 mg et 43 mg de quantité de métabolites.

**Tableau XXXV** : Masse des extraits fongiques par souche antagonistes

| Souches antagonistes | A20 | A30 | A21 | A12E | A11E |
|----------------------|-----|-----|-----|------|------|
| Masse (mg)           | 50  | 65  | 39  | 45   | 43   |

#### 3.1.3.4.2. Activité antifongique des métabolites des souches antagonistes sur les pathogènes *Mycosphaerella fijiensis* et *Fusarium falciforme*

Les différents métabolites des souches antagonistes ont inhibé la croissance des souches pathogènes. L'analyse de variance a indiqué que le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne de *Mycosphaerella fijiensis* et de *Fasarium falciforme* varie de manière significative en fonction de l'extrait métabolite ( $p < 0,05$ ), de la concentration ( $p < 0,05$ ) et de leur interaction ( $p < 0,05$ ) (Tableaux XXXVI et XXXVII).

**Tableau XXXVI :** Analyse de variance du pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne de *Mycosphaerella fijiensis* en fonction de l'extrait métabolite, de la concentration et de leur interaction

| Source de variance    | Degrés de liberté (DL) | Déviance (D) | Degrés de liberté<br>résiduels (DL-res) | Déviance résiduelle<br>(D-res) | Pr(>Chi)                    |
|-----------------------|------------------------|--------------|-----------------------------------------|--------------------------------|-----------------------------|
| NULL                  | -                      | -            | 39                                      | 4,7319                         | -                           |
| Extrait               | 4                      | 0,0529       | 35                                      | 4,6790                         | $< 2,2 \times 10^{-16}$ *** |
| Concentration         | 3                      | 3,9889       | 32                                      | 0,6901                         | $< 2,2 \times 10^{-16}$ *** |
| Extrait:Concentration | 12                     | 0,6794       | 20                                      | 0,0106                         | $< 2,2 \times 10^{-16}$ *** |

\*\*\* :  $p < 0,001$

**Tableau XXXVII :** Analyse de variance du pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne de *Fusarium falciforme* en fonction de l'extrait métabolite, de la concentration et de leur interaction

| Source de variance    | Degrés de liberté (DL) | Déviance (D) | Degrés de liberté<br>résiduels (DL-res) | Déviance résiduelle<br>(D-res) | Pr(>Chi)                    |
|-----------------------|------------------------|--------------|-----------------------------------------|--------------------------------|-----------------------------|
| NULL                  | -                      | -            | 39                                      | 24,0274                        | -                           |
| Extrait               | 4                      | 0,6755       | 35                                      | 23,3520                        | $< 2,2 \times 10^{-16}$ *** |
| Concentration         | 3                      | 21,0824      | 32                                      | 2,2695                         | $< 2,2 \times 10^{-16}$ *** |
| Extrait:Concentration | 12                     | 2,2319       | 20                                      | 0,0376                         | $< 2,2 \times 10^{-16}$ *** |

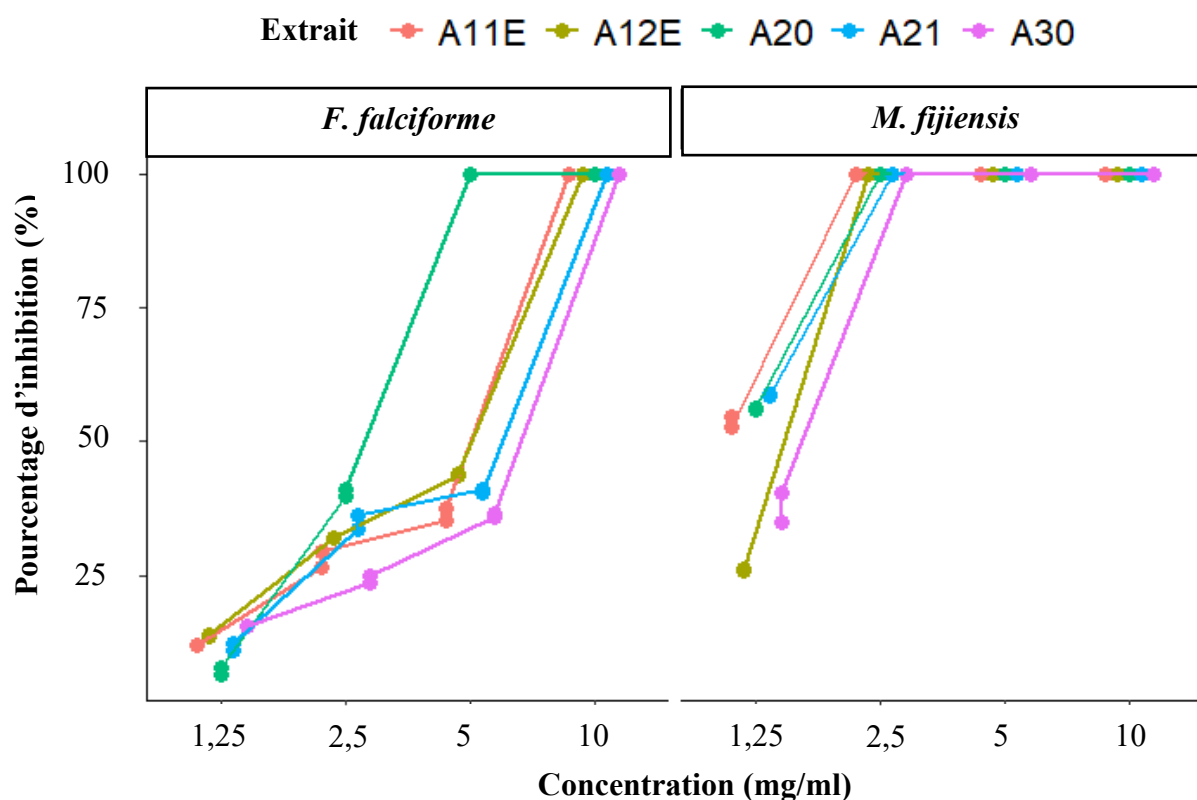
\*\*\* :  $p < 0,001$

L'activité inhibitrice des extraits métabolites des souches antagonistes avec les pathogènes *Mycosphaerella fijiensis* et *Fusarium falciforme* est illustrée par la figure 37.

Tous les extraits métabolites ont induit une inhibition totale (100 %) de la croissance du pathogène *M. fijiensis* à partir de 2,5 mg/mL. À 1,25 mg/mL, les métabolites de la souche *Trichoderma reesei* (A21) a présenté la meilleure inhibition avec 58,59 %, tandis que ceux de la souche *Trichoderma ghanense* (A12E) ont induit l'inhibition la plus faible, à 26,11 %. L'allure des courbes révèle une réponse rapide de l'inhibition avec l'augmentation de la concentration. Le tableau XXXVIII présente les paramètres antifongiques de ces extraits métabolites des souches antagonistes. L'extrait métabolite de *Trichoderma reesei* (A21) s'est distingué par sa concentration inhibitrice à 50 % (CI50) la plus basse, soit 0,99 mg/mL, et une concentration minimale fongicide (CMF) de 5 mg/mL. Les extraits métabolites des souches de *Neurospora dictyophora* (A20), de *Hamigera terricola* (A11E) et de *Trichoderma longibrachiatum* (A30) ont également montré de bonnes performances, avec des CI50 respectives de 1,08 mg/mL, 1,16 mg/mL et 1,50 mg/mL, ainsi qu'une CMF de 5 mg/mL. En revanche, l'extrait métabolite de la souche *Trichoderma ghanense* (A12E) a induit la CI50 la plus élevée, à 1,65 mg/mL avec une CMF plus élevée de 10 mg/mL.

Concernant le pathogène *Fusarium falciforme*, tous les extraits métabolites des souches antagonistes ont induit une inhibition totale (100 %) de sa croissance à partir de la concentration 10 mg/mL. À la concentration 1,25 mg/mL d'extrait métabolites, la souche *Trichoderma longibrachiatum* (A30) a obtenu la meilleure inhibition avec 15,48 %, tandis que celle de la souche *Neurospora dictyophora* (A20) présentait la plus faible inhibition à 7,06 %. À la concentration 2,5 mg/mL, l'extrait métabolite de *Neurospora dictyophora* (A20) induisait 40,35 % d'inhibition, et à 5 mg/mL, celui-ci devenait très efficace, avec une inhibition totale de la croissance mycélienne (100 %). Les extraits métabolites des souches de *Trichoderma ghanense* (A12E) et de *Trichoderma reesei* (A21) ont montré respectivement des inhibitions de 43,82 % et 40,71 % à 5 mg/mL, tandis que ceux de *Hamigera terricola* (A11E) présentaient une inhibition de 36,29 % et ceux de *Trichoderma longibrachiatum* (A30) une inhibition de 36,11 % à cette même concentration. Les courbes indiquent également une réponse rapide de l'inhibition avec l'augmentation de la concentration. L'analyse des paramètres antifongiques de ces extraits métaboliques des souches antagonistes a révélé que l'extrait métabolite de *Neurospora dictyophora* (A20) était le plus efficace, avec une CI50 de 2,9 mg/mL et une CMF de 5 mg/mL. Les extraits métabolites des souches de *Trichoderma ghanense* (A12E) et de *Trichoderma longibrachiatum* (A30) ont également montré de bonnes performances, avec des

CI50 respectives de 6,3 mg/mL et 7,92 mg/mL, ainsi qu'une CMF de 10 mg/ml. En revanche, les extraits métabolites de *Trichoderma reesei* (A21) et de *Hamigera terricola* (A11E) ont montré des CI50 plus élevées, respectivement de 9,01 mg/mL et 9,05 mg/mL, avec des CMF supérieures à 10 mg/mL (Tableau XXXVIII).



**Figure 37 :** Pourcentage d'inhibition de la croissance de *Mycosphaerella fijiensis* et de *Fusarium falciforme* en fonction de la concentration des extraits fongiques

**Tableau XXXVIII :** Variation des CI50 (Concentration qui induit 50 % d'Inhibition), CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) et CMF (Concentration Minimale Fongicide) en fonction des extraits

| Extraits fongiques | Paramètres antifongiques        |             |             |                            |             |             |
|--------------------|---------------------------------|-------------|-------------|----------------------------|-------------|-------------|
|                    | <i>Mycosphaerella fijiensis</i> |             |             | <i>Fusarium falciforme</i> |             |             |
|                    | CI50 (mg/ml)                    | CMI (mg/ml) | CMF (mg/ml) | CI50 (mg/ml)               | CMI (mg/ml) | CMF (mg/ml) |
| A12E               | 1,65                            | 2,5         | 10          | 6,3                        | <10         | 10          |
| A21                | 0,99                            | 2,5         | 5           | 9,01                       | 10          | >10         |
| A30                | 1,50                            | 2,5         | 5           | 7,92                       | <10         | 10          |
| A20                | 1,08                            | 2,5         | 5           | 2,9                        | <5          | 5           |
| A11E               | 1,16                            | 2,5         | 5           | 9,05                       | 10          | >10         |

### 3.1.3.5. Synthèse des actions antagonistes

Le tableau XXXIX présente l'activité inhibitrice de différents champignons antagonistes (*Neurospora dictyophora* (A20), *Trichoderma ghanense* (A12E), *T. longibrachiatum* (A30), *T. reesei* (A21) et *Hamigera terricola* (A21)) vis-à-vis de certains champignons pathogènes du bananier. Cette activité inhibitrice a été évaluée à la fois en confrontation directe et par l'effet des métabolites secondaires de ces antagonistes.

En confrontation directe, tous les agents de biocontrôle ont montré une activité inhibitrice sur la croissance des pathogènes. Parmi ceux-ci, *Neurospora dictyophora* (A20) a présenté la plus forte activité inhibitrice. Au niveau des métabolites secondaires, tous les champignons antagonistes ont présenté une forte activité inhibitrice sur les champignons pathogènes. Les principaux modes d'action utilisés par ces antagonistes pour inhiber la croissance mycélienne des pathogènes ont été la compétition pour l'espace et les nutriments et l'antibiose. Cependant, *Neurospora dictyophora* (A20) a eu un mode d'action plus complet, combinant la compétition, l'antibiose et le mycoparasitisme. Ces antagonistes ont montré des capacités inhibitrices remarquables, à la fois par leur comportement en confrontation directe et par l'action de leurs métabolites secondaires.

**Tableau XXXIX :** Activité inhibitrice des champignons antagonistes en confrontation directe avec les pathogènes et effet inhibiteur de leurs métabolites secondaires sur ces pathogènes

| Moisissures | Confrontations directes | Effets des métabolites | Modes d'action                            |
|-------------|-------------------------|------------------------|-------------------------------------------|
| A12E        | +                       | ++                     | Compétition + antibiose                   |
| A21         | +                       | ++                     | Compétition + antibiose                   |
| A30         | +                       | ++                     | Compétition + antibiose                   |
| A20         | ++                      | ++                     | Compétition + antibiose + mycoparasitisme |
| A11E        | +                       | ++                     | Compétition + antibiose                   |

++ : forte activité inhibitrice ;  
+ : faible activité inhibitrice

### **3.2. Discussion**

#### **3.2.1. Typologie des bananeraies de la zone agroécologique du Haut-Sassandra**

Face aux impacts du changement climatique, les cultivateurs de plantain dans la zone agroécologique du Haut-Sassandra combinent diverses stratégies d'adaptation afin de préserver leur production. Ces approches affectent les caractéristiques physico-chimiques des sols ainsi que la disponibilité des microorganismes.

Dans cette zone agroécologique, il existe de grandes plantations de plus d'un hectare, réparties selon les départements. La moyenne de la superficie des bananeraies du plantain en Côte d'Ivoire est d'un hectare (Traoré *et al.*, 2009). La région du Haut-Sassandra fait partie donc des zones de forte production du plantain comme indiqué par Audrey (2015) sur l'étude de la filière banane plantain en Côte d'Ivoire. Cependant, peu de plantations dans le département de Vavoua font plus d'un hectare. En effet, les populations de ce département s'intéressent de plus en plus à la culture d'anacardier délaissant les autres cultures.

Dans la région du Haut-Sassandra, la culture du plantain est dominée par les ivoiriens. Cela pourrait être lié au fait que la majorité des terres cultivées sont des propriétés familiales et la banane fait partie des habitudes alimentaires de ces populations. Des observations similaires ont été mis en évidence par Traoré *et al.* (2009) sur le système de culture du plantain en milieu paysan dans les départements d'Aboisso, d'Agboville, de Bouaflé, de Gagnoa et de San-Pedro (Côte d'Ivoire). La plupart des planteurs ont un niveau d'étude moyen et sont de sexe masculin. En effet, les femmes s'intéressent plus aux cultures maraichères et au commerce dans la région du Haut-Sassandra selon les travaux de Mathata (2020). La majorité des producteurs est jeune car la mise en place et l'entretien des bananeraies nécessitent assez de travaux physiques. Ces travaux seraient donc très pénibles pour les femmes et les vieillards comme le soulignent les travaux de Guengant (2007) et ceux de Assiri *et al.* (2009). Les producteurs disposent en général de 2 à 4 plantations et les récoltes sont destinées à l'alimentation et à la commercialisation.

Les plantations se font par des cultures sur-brûlis qui demandent peu de travail. Cette pratique avec ses avantages comme la fertilisation de la terre par la cendre et la suppression de certaines nuisibles, entraîne la déforestation, la dégradation du sol, l'augmentation de l'érosion et l'assèchement du climat. Ce constat a été déjà fait par Alexandre (2019) sur des agriculteurs pratiquant l'agroforesterie sur les flancs de montagne de Man (Côte d'Ivoire). Les variétés cultivées sont issues généralement d'une ancienne plantation et leur mode d'acquisition sans contrôle montrent clairement que les producteurs sont confrontés au problème de matériel de plantation. En effet, plus de 90 % des rejets sont acquis avec un voisin.

Ces résultats ne corroborent pas ceux de Traoré *et al.* (2009) qui indiquent que 80 % des rejets sont acquis sur le marché dans les départements d'Agboville et d'Aboisso. Presque toutes les plantations sont entretenues 2 à 4 fois par an et étaient jeunes (2 à 5 ans d'âge). Ceci pourrait être à l'origine de la bonne production observée dans 32,4 % des bananeraies au cours des deux dernières années. Cependant, le même matériel d'entretien utilisé pour l'ensemble des plantations pourrait entraîner une transmission des maladies phytopathogènes d'une plantation à une autre.

Les chefs d'exploitation utilisent fréquemment à la fois les produits chimiques et la méthode manuelle pour lutter contre les mauvaises herbes comme l'ont décrit aussi les travaux de Bakry *et al.* (2005). La lutte contre les maladies se fait généralement à l'aide de la méthode empirique, c'est-à-dire destruction du bananier présentant une large gamme de symptômes de maladies. Ces méthodes de lutte empirique s'apparentent aux méthodes biologiques et seraient à l'origine de la durabilité de la production. Généralement, les produits de synthèse chimique sont très peu utilisés contre les maladies du bananier plantain en Afrique (NKendah & Akyeampong, 2003). L'utilisation des engrais organiques pour la fertilisation assure aussi la durabilité de la filière banane plantain, comme l'a indiqué Hedegla (2022) sur celle du Bénin.

Les bananeraies investiguées sont installées majoritairement sur des terrains plats, ce qui limite les phénomènes d'érosion. La culture du plantain dans le Haut-Sassandra est marquée principalement par l'association culturale. Les mêmes observations ont été faites par Vawa *et al.* (2015) sur la replantation annuelle des cultures de plantain en Côte d'Ivoire. Les plants de ces exploitations en association étaient robustes avec le feuillage en majorité verte. Quant aux bananeraies en monoculture, 87,5 % ont présenté une mauvaise production. Les effets positifs observés chez la plupart des bananeraies en association seraient liés au fait que les plantes associées avec les bananiers jouent un rôle d'ombrage précieux pour les bananiers en atténuant les effets de la lumière solaire et de la chaleur excessive. Ces observations sont en adéquations avec ceux de Souza *et al.* (2012) qui indiquent que dans un système d'association de cultures certaines plantes se comportent comme des arbres d'ombrage pour d'autres. L'atténuation du stress thermique permet à la plante de maintenir sa transpiration à un niveau optimal (Meven, 2015). Des producteurs utilisent des plantes de couvertures pour limiter l'érosion des sols et lutter contre les adventices. Ces plantes joueraient également un rôle d'ombrage précieux dans les plantations et permettraient l'accroissement de la fertilité des sols par l'apport de matière organique, la fixation de l'azote, l'augmentation de la biodiversité et la diminution du risque de lixiviation de l'azote (Toussaint, 2010).

Des haies vives sont souvent constituées soit de plantes d'hévéa ou de teck. Des observations similaires ont été faites par Kouamé *et al.* (2019) sur les stratégies et pratiques paysannes de gestion durable de la fertilité des sols dans le département de Korhogo au Nord de la Côte d'Ivoire.

La culture du bananier de la zone d'étude est soumise à diverses contraintes à savoir les pressions des maladies biotiques et abiotiques. Des résultats similaires ont été obtenus par Kouakou *et al.*, (2016) sur les plateformes d'innovation de la filière du plantain en Côte d'Ivoire. En effet, toutes les plantations investiguées ont présenté souvent des symptômes de maladies. Des producteurs attribuaient ces maladies à la sécheresse et au mauvais état du sol. Or ces maladies pourraient être aussi liées aux agents phytopathogènes (Perez-Vicente *et al.*, 2014). En effet, la coloration jaune des feuilles et les bananiers chétifs observés pourraient être liés à la présence de certains pathogènes fongiques et bactériens dans ces exploitations (Perez-Vicente *et al.*, 2014). Les tâches foliaires noires observées dans plusieurs plantations pourraient être dues à la présence du pathogène *Mycosphaerella* responsables des maladies foliaires (Gasparotto *et al.*, 2005).

Les sols rhizosphériques des bananiers de la région du Haut-Sassandra ont montré une grande variabilité des caractéristiques physico-chimiques, ce qui pourrait avoir un impact direct sur la gestion agricole et la productivité des bananiers. Ces sols sont acides ; caractéristiques des sols tropicaux. Cette acidité pourrait limiter la disponibilité de certains nutriments, tels que le phosphore, mais reste globalement adaptée à la culture du plantain, comme stipulé par Thiémélé *et al.* (2017) sur la production de banane plantain en Côte d'Ivoire. Le rapport C/N indique que la décomposition de la matière organique est plus lente dans certains sols, comme ceux des systèmes d'association de Zoukougbeu et de Vavoua ; ce qui permet une libération plus régulière des nutriments, notamment l'azote. Cette caractéristique est particulièrement bénéfique pour maintenir une fertilité durable (Gagnard *et al.*, 1988). Cependant, les rapports C/N plus bas observés dans des sols comme ceux des monocultures de Daloa et Issia indiquent une disponibilité plus rapide de l'azote, augmentant le risque de lessivage de l'azote et d'épuisement de la fertilité du sol à long terme (Znaïdi, 2002). Par ailleurs, la texture des sols, avec des proportions variables de sable (fin et grossier) et de limon grossier, influence également la gestion de l'eau et la disponibilité des nutriments. Les sols limono-sableux, comme ceux de Daloa, de Vavoua et d'Issia, qui contiennent plus de sable grossier, peuvent souffrir d'un drainage rapide et d'une perte plus importante de nutriments par lessivage, ce qui pourrait limiter la productivité des bananiers si l'irrigation et la gestion des amendements

organiques ne sont pas adaptées (Baize, 2018 ; Cordeau *et al.*, 2024). Cependant, le sol limoneux des systèmes d'association de Zoukougbeu, avec ses proportions considérables en limon grossier et en sable fin, présente une bonne capacité de rétention d'eau, ce qui est favorable à la culture du bananier en assurant une humidité stable et en évitant le lessivage rapide des nutriments (Kwa & Temple, 2019 ; Idi-Issa, 2022).

### **3.2.2. Champignons rhizosphériques des bananeraies dans la Région du Haut-Sassandra**

La rhizosphère constitue un réservoir de divers microorganismes à interactions bénéfiques ou non pour les plantes. Dans cette étude un intérêt particulier a été accordé aux champignons présents dans le sol rhizosphérique des bananiers de la région du Haut-Sassandra

L'analyse microbiologique de sol prélevés à partir des seize (16) bananeraies de la zone agroécologique de la région du Haut-Sassandra, a révélé une diversité fongique dans le sol de ces plantations. Les champignons isolés appartiennent à quatorze (14) genres fongiques que sont *Hamigera*, *Trichoderma*, *Neurospora*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Rhizomucor*, *Rhizopus*, *Absidia*, *Alternaria*, *Acremonium*, *Scytalidium*, *Scedosporium* et *Bipolaris*. De nombreux travaux indiquent que ces différents genres fongiques isolés, sont des champignons inféodés aux sols rhizosphériques des bananiers (Amine, 2016 ; Ouali & Yaddaden, 2019 ; Boutiba *et al.*, 2021). Les bananeraies des zones de Zoukougbeu et de Issia ont présenté les plus hauts indices de diversité ( $H'$ ) et d'équitabilité ( $E$ ), ce qui signifie qu'elles ont une riche variété de champignons bien répartis. Cette forte diversité fongique dans ces milieux pourrait favoriser des interactions symbiotiques et améliorer la santé des sols (Zine & Talha, 2020). En revanche, bien que les plantations de la zone de Daloa et celles de Vavoua ont affiché une diversité notable, leur répartition en genres fongiques était moins équilibrée. Certains genres étaient donc prédominants dans les bananeraies de ces départements comme l'ont décrit les travaux de Djetti *et al.* (2015).

Les charges fongiques des sols rhizosphériques étaient significativement plus élevées dans les systèmes d'association par rapport aux monocultures. Ces résultats corroborent ceux de Freschet *et al.* (2018), qui ont montré que la diversité des cultures favorise une communauté microbienne plus importante dans le sol, indispensable à sa santé. En revanche, les monocultures, avec des charges fongiques plus faibles, pourraient être plus vulnérables aux pathogènes ; ce qui limiterait la capacité des plantes à se défendre dans ces systèmes. La richesse spécifique ( $s$ ) des bananeraies en genres de micromycètes était également plus importante au niveau des systèmes d'associations culturales par rapport aux monocultures.

Cela pourrait s'expliquer par plusieurs mécanismes écologiques. En effet, dans les systèmes diversifiés, la coexistence de différentes espèces végétales crée une variété de niches écologiques qui favorisent l'établissement d'une plus grande diversité de micromycètes d'après les études de Amani *et al.* (2023). Cette diversité végétale enrichit également le sol en matière organique, essentielle pour la croissance de ces microorganismes (Mouria *et al.*, 2013). De plus, la réduction de la compétition pour les ressources dans un environnement diversifié permet à un plus grand nombre de moisissures de prospérer (Freschet *et al.*, 2018).

La corrélation entre les propriétés physico-chimiques des sols et les champignons rhizosphériques a révélé que la répartition de ces champignons était fortement influencée par plusieurs facteurs, notamment la texture du sol (composée essentiellement de sable fin, limon fin et argile), ainsi que le carbone (C), l'azote (N) et le pH. Une forte corrélation a été observée entre certains champignons, tels qu'*Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizomucor*, *Rhizopus*, *Scytalidium*, et la teneur en argile, malgré sa faible proportion dans les sols rhizosphériques analysés. Ces résultats corroborent les conclusions de Cazabonne (2024), qui ont montré que même de faibles concentrations en argile peuvent favoriser la présence de certains genres fongiques, comme *Aspergillus*, *Rhizomucor* et *Scytalidium*, suggérant qu'une faible teneur en argile, en combinaison avec d'autres éléments de la texture du sol, peut créer un environnement propice à ces microorganismes. Par ailleurs, une corrélation marquée a été observée entre des champignons tels que *Alternaria*, *Scedosporium*, *Absidia*, *Bipolaris*, *Acremonium*, *Trichoderma*, *Neurospora* et *Hamigera*, et la richesse en carbone et azote, ainsi que les fortes teneurs en sable fin et en limon fin. Ces résultats sont en accord avec ceux de Idi-Issa (2022), qui ont mis en évidence l'importance des sols sablo-limoneux et riches en matières organiques pour la croissance de nombreux champignons. Cependant, des recherches antérieures, telles que celles de Faso (2010), ont montré que des sols excessivement riches en carbone peuvent inhiber la croissance de certains champignons, ce qui suggère que l'interaction entre le carbone, l'azote et d'autres paramètres du sol peut varier en fonction des genres fongiques. Enfin, une corrélation marquée a été observée entre le genre *Fusarium* et le pH du sol ; ce dernier étant généralement moins acide (pH proche de 7). Cette tendance est également confirmée par les travaux de Tivoli *et al.* (1990), qui ont montré que *Fusarium* préfère les sols moins acides. Toutefois, d'autres études, telles que celles de Dumestre *et al.* (1997), ont indiqué que certaines espèces de *Fusarium* peuvent également se développer dans des sols légèrement acides, ce qui souligne la complexité de la relation entre ce genre fongique et le pH.

L'Analyse en Composantes Factorielles (AFC) a indiqué que les systèmes culturaux influencent de manière significative la répartition des genres fongiques, une relation qui est expliquée à plus de 75 % par les deux premiers axes de l'analyse. Cela indique un impact notable des pratiques agricoles sur la diversité fongique observée. Dans les systèmes d'association culturales, à l'exception de ceux du département de Vavoua, les champignons *Trichoderma*, *Neurospora*, *Absidia*, *Scedosporium*, *Alternaria* et *Hamigera* ont été les plus fréquemment isolés. Dans ces systèmes, les bananiers étaient associés à des caféiers et des cacaoyers, tandis que dans ceux de Vavoua, les bananiers étaient cultivés en association avec des anacardiés, ainsi que des cultures maraîchères (le gombo et le piment). La présence de ces champignons semble donc être liée à la nature des cultures associées aux bananiers, comme stipulé par Freschet *et al.* (2018) sur les interactions entre le sol et la végétation. L'abondance des genres *Hamigera*, *Trichoderma* et *Neurospora* dans la majorité des systèmes d'association est favorable, car ces moisissures sont reconnues pour leurs propriétés antagonistes puissantes contre de nombreux agents pathogènes fongiques (Jenny *et al.*, 2022 ; Howell, 2002 ; Mulaw *et al.*, 2013). Ainsi, ces champignons pourraient jouer un rôle important dans la réduction des maladies fongiques sur les bananiers dans ces régions (Mulaw *et al.*, 2013). En revanche, dans les monocultures et les associations culturales de Vavoua, une présence plus marquée des genres *Bipolaris*, *Acremonium*, *Mucor*, *Scytalidium*, *Rhizomucor*, *Rhizopus*, *Aspergillus* et *Fusarium* a été observée. La dominance de certains genres fongiques, notamment *Fusarium* et *Aspergillus* qui renfermeraient des espèces pathogènes. Ces pathogènes pourraient causer d'importantes pertes de production de banane, comme l'indiquaient Aguayo *et al.* (2017). Ces auteurs précisent que certaines espèces de *Fusarium* et d'*Aspergillus* sont responsables de diverses maladies du bananier, telles que la pourriture de la couronne, les tâches en pointes de diamant, le pourridié fongique, la fusariose, la pourriture du pédoncule et la pourriture du cœur du pseudo-tronc.

L'analyse factorielle des interactions entre les champignons rhizosphériques a mis en évidence le rôle central de ces interactions dans la structuration de la communauté fongique de la rhizosphère. Ces interactions ont offert trois classes de champignons saprophytes de la rhizosphère du bananier. Une première classe constituée des genres *Trichoderma*, *Hamigera* et *Neurospora* qui pourraient être des antagonistes. Une deuxième classe composée de champignons tels que *Acremonium*, *Bipolaris*, *Scytalidium*, *Absidia*, *Alternaria* et *Scedosporium*, et une troisième classe regroupant des champignons comme *Fusarium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Mucor* et *Rhizomucor* qui pourraient être des pathogènes pour le bananier. Cette analyse est confirmée par le dendrogramme qui a offert également trois

distincts groupes de champignons, montrant ainsi les relations écologiques et les dynamiques qui régissent ces groupes au sein de la rhizosphère. Le premier groupe, composé de *Trichoderma*, *Hamigera* et *Neurospora*, s'est caractérisé par des interactions particulièrement fortes entre ses membres. Dans les environnements où ces champignons étaient prédominants, la présence des autres espèces fongiques tendait à diminuer. Cela suggère que *Trichoderma*, *Hamigera* et *Neurospora* ont exercé une répression, voire une forme de dominance, sur les autres champignons. *Trichoderma*, en particulier, est réputé pour ses propriétés antagonistes et compétitives, notamment contre les champignons pathogènes. Cette capacité à limiter la diversité fongique dans la rhizosphère a été soulignée par plusieurs études, dont celle de Nawaz *et al.* (2018), qui a mis en lumière la production par *Trichoderma* de puissants métabolites secondaires capables d'inhiber la croissance d'autres champignons, en faisant ainsi un régulateur clé de la communauté fongique du sol. Les interactions entre *Hamigera*, *Neurospora* et *Trichoderma* semblent favoriser un environnement défavorable pour les autres champignons. Le deuxième groupe était composé de *Acremonium*, *Bipolaris*, *Scytalidium*, *Absidia*, *Alternaria* et *Scedosporium*, des champignons associés à la rhizosphère de plusieurs plantes qui jouerait exclusivement un rôle de saprophytisme dans la rhizosphère du bananier (Mulaw *et al.*, 2013 ; Zerroug, 2021). Spécialisés dans la dégradation de la matière organique morte, ces champignons pourraient jouer un rôle essentiel dans le recyclage des nutriments du sol (Orlici & Benkara, 2018). Ces champignons étaient abondants, lorsque *Trichoderma*, *Hamigera* et *Neurospora* étaient moins présents. Ces champignons saprophytes prospéreraient dans des environnements riches en matière organique et où la concurrence pour ces ressources est moins marquée. Cette observation est cohérente avec des recherches antérieures qui ont démontré le rôle crucial des saprophytes dans la gestion des ressources nutritives et la dégradation de la matière organique dans la rhizosphère (Davet, 1996 ; Benmehidi & Boukaabache, 2018). L'abondance de ces champignons en l'absence de *Trichoderma* et autres champignons antagonistes suggère que la compétition limitée avec des espèces dominantes favorise leur développement. Le troisième groupe a renfermé les genres *Fusarium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Mucor* et *Rhizomucor* ; des champignons saprophytes et de potentiels pathogènes. Bien qu'ils participent à la dégradation de la matière organique, certains genres comme *Fusarium* et *Aspergillus* sont également des pathogènes notables, notamment dans les cultures de bananiers. Des études ont montré que certaines espèces de *Fusarium* et *Aspergillus* sont responsables de maladies comme la fusariose et la pourriture des fruits et des couronnes dans les bananeraies (Dita *et al.*, 2010 ; Ellis *et al.*, 2014). Ces champignons pathogènes étaient plus présents dans les bananeraies lorsque *Trichoderma*, *Hamigera* et *Neurospora* étaient moins

abondants ou absents, ce qui indique que l'absence de champignons antagonistes permet une prolifération plus facile de ces pathogènes. Ces résultats sont confirmés par des travaux antérieurs selon lesquels *Fusarium* et *Aspergillus* peuvent dominer les communautés fongiques en l'absence de compétiteurs forts (Hamel, 2016).

### **3.2.3. Champignons antagonistes des pathogènes du plantain**

L'utilisation excessive de fongicides chimiques dans la culture du plantain peut entraîner une pollution de l'environnement et favoriser l'émergence de pathogènes résistants à ces traitements. De plus, ces produits chimiques sont responsables de divers problèmes de santé chez les humains et les animaux (Mulaw *et al.*, 2013). Ainsi, la réduction ou l'élimination des pesticides de synthèse en agriculture est vivement recommandée. L'usage de microorganismes comme agents de lutte biologique reste l'une des alternatives les plus prometteuses.

Au cours de cette étude, des espèces fongiques potentiellement pathogènes issues de la rhizosphère et des feuilles de bananiers ont été isolées. Ce sont *Fusarium falciforme*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus spinosus* et *Mycosphaerella fijiensis*. Neuf souches potentiellement antagonistes (isolées de la rhizosphère) appartenant aux genres *Trichoderma*, *Neurospora* et *Hamigera* ont été mis en confrontation avec les pathogènes à l'effet de rechercher une éventuelle activité de biocontrôle. Les souches de *Neurospora dictyophora* (A20), de *Hamigera terricola* (A11E et A6), de *Trichoderma longibrachiatum* (A30 et 12), de *Trichoderma ghanense* (A12E et A29) et de *Trichoderma reesei* (A21 et I4) dites antagonistes ont exercé une inhibition variable de la croissance radiale des pathogènes testés, notamment *Aspergillus fumigatus*, *A. spinosus*, *Fusarium falciforme* et *Mycosphaerella fijiensis*. De nombreuses études soulignent en effet l'efficacité de certaines espèces dans le biocontrôle des pathogènes fongiques (Howell, 2002 ; Mulaw *et al.*, 2013).

Les tests de confrontations réalisés avec la souche de *Neurospora dictyophora* (A20) ont montré une forte inhibition de la croissance radiale de tous les pathogènes. Ce champignon a réduit la croissance radiale de *Aspergillus fumigatus*, *Fusarium falciforme*, *Aspergillus spinosus* et *Mycosphaerella fijiensis* avec des pourcentages d'inhibition respectifs de 60,21 %, 73,44 %, 82,13 % et 100 %. Cette inhibition marquée par *Neurospora dictyophora* contraste avec les résultats de Daghache (2021), qui a observé une inhibition beaucoup plus faible (45 %) de la croissance de *Aspergillus niger* par une souche de *Neurospora*. Cette différence pourrait s'expliquer par les variations entre les espèces de *Neurospora* utilisées. Deux

mécanismes d'action, la compétition et le mycoparasitisme, ont été observés dans l'antagonisme de *Neurospora dictyophora* contre le pathogène *M. fijiensis*. Ce champignon a rapidement colonisé la boîte de Pétri, puis s'est développé sur la souche pathogène, la détruisant complètement à partir du 15<sup>ème</sup> jour de la confrontation. En revanche, lors de l'antagonisme avec *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus spinosus* et *Fusarium falciforme*, la souche de *Neurospora dictyophora* n'a présenté que le phénomène de compétition pour les ressources et l'espace, bloquant ainsi le développement des pathogènes. Dès le troisième jour des confrontations, ce champignon a envahi toute la boîte de Pétri, supplantant les pathogènes, puis s'est propagé sur ces derniers, inhibant leur croissance mycélienne, sans toutefois entraîner leur destruction totale. Selon Hamel (2016), cette situation résulte de la compétition pour les nutriments et l'espace. Le mycoparasitisme observé dans l'antagonisme de *Neurospora dictyophora* contre *M. fijiensis* est en accord avec les observations de Bettou & Righi (2018), qui soulignent que le mycoparasitisme est un mode d'action nécessitant rapidité, spécificité et contact direct entre l'agent antagoniste et le champignon phytopathogène. Selon Leghlimi (2013), ce type de relation implique que l'agent antagoniste se développe aux dépens de son hôte, qu'il utilise comme source nutritive. Différentes enzymes, telles que la chitinase et la  $\beta$ -1,3-glucanase, jouent généralement un rôle clé dans cette interaction pour lyser la paroi fongique du pathogène (Berber, 2009 ; Nasraoui, 2015). En outre, les tests de confrontations effectués entre les souches de *Trichoderma* et les pathogènes testés ont révélé des effets inhibiteurs notables sur la croissance mycélienne de ces derniers. Ainsi, les souches de *Trichoderma longibrachiatum* (A12 et A30) ont induit une réduction significative de plus de 50 % de la croissance radiale de *Fusarium falciforme*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus spinosus* et *Mycosphaerella fijiensis*. Ces résultats suggèrent que *T. longibrachiatum* possède un potentiel antifongique marqué comme indiqué par Nasraoui (2015). De manière similaire, *Trichoderma ghanense* (A12E) a entraîné une inhibition supérieure à 50 % pour *Mycosphaerella fijiensis*, *Aspergillus spinosus* et *Fusarium falciforme*, confirmant les propriétés antagonistes de cette espèce. La souche *T. ghanense* (A29) a quant à elle démontré une activité inhibitrice particulièrement forte contre *Aspergillus spinosus* (63,18 %). Cela met en évidence son efficacité ciblée contre certains pathogènes. Des résultats similaires ont été obtenus par Debbi (2019), qui a rapporté une inhibition de croissance de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* de 59,1 % et 62,4 % respectivement pour *T. ghanense* et *T. longibrachiatum*. Concernant *Trichoderma reesei*, la souche A21 a présenté une inhibition significative de *Aspergillus fumigatus* (51,67 %) et *Aspergillus spinosus* (58,25 %), tandis que la souche *T. reesei* (I4) a montré les meilleurs résultats contre *Fusarium falciforme* (55,19 %) et *Aspergillus*

*spinosus* (63,60 %). Ces données confirment les propriétés antifongiques de *T. reesei*, bien que celles-ci soient moins marquées que celles observées par Nawaz *et al.* (2018), qui ont rapporté une inhibition de plus de 85,5 % de *Phytophthora capsici* par *T. reesei* en double culture. Ces divergences peuvent être attribuées à la différence des pathogènes étudiés et à la nature des interactions spécifiques entre les souches de *Trichoderma* et les agents pathogènes. Enfin, les souches de *Hamigera terricola* (A11E et A6) ont montré une inhibition plus marquée de *Aspergillus spinosus* (respectivement 57,13 % et 47,75 %), bien que ces taux d'inhibition demeurent inférieurs à ceux observés dans d'autres études. En comparaison, Silva *et al.* (2024) ont rapporté des inhibitions supérieures à 70 % de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* par une souche de *Hamigera insecticola*, ce qui souligne le potentiel de certaines souches de *Hamigera* dans le contrôle de pathogènes fongiques. Cette différence peut être expliquée par la variabilité entre les souches testées et les conditions expérimentales. L'antagonisme observé chez ces champignons s'est manifesté par un changement de couleur et une modification de la forme des pathogènes. Par la suite, ils ont rapidement envahi toute la surface de la boîte de Petri, sans pour autant se développer sur les souches pathogènes. D'après Köhl *et al.* (2019), la déformation et la modification de la coloration du mycélium d'un champignon en présence d'un autre, résultent d'un phénomène d'antibiose. En effet, ces chercheurs expliquent que, lors d'une confrontation directe *in vitro*, l'agent antagoniste freine la croissance du pathogène en produisant des composés antimicrobiens, tels que des enzymes hydrolytiques (chitinases, cellulases,  $\beta$ -1,3-glucanases), des antibiotiques, des phénols, des alcaloïdes, des composés volatils et d'autres métabolites toxiques. Ces substances sont responsables de la déformation du mycélium, modifiant ainsi son apparence et sa pigmentation (Afaf, 2020). L'occupation rapide de toute la boîte de Petri par les antagonistes s'explique par une compétition pour l'espace et les ressources nutritives (Aouar *et al.*, 2019 ; Sellami, 2022).

Les tests réalisés avec les extraits métabolites de *Trichoderma reesei* (A21), *Hamigera terricola* (A11E), *Trichoderma ghanense* (A12E), *Neurospora dictyophora* (A20) et *Trichoderma longibrachiatum* (A30) ont révélé leur potentiel exceptionnel à inhiber la croissance des souches pathogènes *Mycosphaerella fijiensis* et *Fusarium falciforme*.

L'analyse des métabolites produits par ces champignons antagonistes ont révélé une large diversité de composés tels que des peptides, des flavonoïdes, des terpénoïdes, des phénols et des acides carboxyliques, qui seraient responsables de leur activité antagoniste, comme le

suggère Zerroug (2018). Selon cet auteur, la production variée de métabolites bioactifs par un agent de biocontrôle renforce son efficacité contre les pathogènes.

Concernant le pathogène *M. fijiensis*, tous les extraits métabolites des souches antagonistes ont montré une inhibition significative, avec une inhibition totale de la croissance radiale à partir de 2,5 mg/ml, établissant cette concentration comme la concentration minimale inhibitrice (CMI) pour chacun (Diatta *et al.*, 2022). Les CMI similaires obtenues pour ces extraits métabolites suggèrent que leurs métabolites bioactifs partagent des propriétés antifongiques communes contre ce pathogène. L'extrait métabolite de *Trichoderma reesei* (A21) s'est distingué particulièrement, avec une concentration inhibitrice à 50 % (CI50) très faible (0,99 mg/ml) et une concentration minimale fongicide (CMF) de 5 mg/ml, le rendant l'un des extraits les plus efficaces contre *M. fijiensis*. De même, les extraits métabolites de *Neurospora dictyophora* (A20), *Trichoderma longibrachiatum* (A30) et *Hamigera terricola* (A11E), bien que présentant des CI50 légèrement plus élevées, ont également montré des CMF de 5 mg/ml, ce qui les place parmi les extraits efficaces. Les métabolites tels que les sulfonamides, les terpénoïdes, les flavonoïdes et les peptides présents dans ces extraits métabolites sont probablement responsables de leur efficacité contre *M. fijiensis*. Ces résultats sont conformes avec des études précédentes où des extraits métabolites de certaines souches de *Trichoderma* sp. et de *Neurospora* sp. ont montré des activités inhibitrices significatives contre une souche de *Mycosphaerella* sp., avec des CMF variant de 5 à 6 mg/ml (AgroSys, 2018 ; Daghache, 2021). Selon ces auteurs, l'inhibition de la croissance de *Mycosphaerella* sp. est essentiellement liée à l'action des sulfonamides, des peptides, des flavonoïdes et des terpénoïdes, qui perturbent les processus biologiques du pathogène. Enfin, l'extrait métabolite de *Trichoderma ghanense* (A12E) a présenté une CI50 plus élevée (1,65 mg/ml) et une CMF de 10 mg/ml, ce qui indique une efficacité réduite à faibles concentrations (Ramada *et al.*, 2019). Bien que cet extrait contienne des métabolites tels que des peptides, flavonoïdes et terpénoïdes, il a nécessité des concentrations plus élevées pour une inhibition fongicide complète de la croissance mycélienne de *M. fijiensis*. Cette faible activité antagoniste pourrait être expliquée par une concentration moindre de ces métabolites dans l'extrait métabolites de *T. ghanense*, comme l'ont suggéré Chalearmsrimuang *et al.* (2019) dans leur étude sur les agents de lutte biologique tolérants aux halos contre les champignons phytopathogènes.

Cependant, pour *Fusarium falciforme*, des différences notables ont été observées entre les extraits métabolites des souches antagonistes. L'extrait métabolite de *Neurospora dictyophora* (A20) s'est distingué par une CI50 de 2,9 mg/ml et une CMF de 5 mg/ml, montrant ainsi une

efficacité supérieure à faible concentration contre ce pathogène. Cette efficacité pourrait être attribuée à la présence dans cet extrait de peptides antimicrobiens et de terpénoïdes, comme le soulignent Aouar *et al.* (2019). Dans leur étude, ces auteurs précisent que l'efficacité de nombreuses espèces fongiques contre les espèces de *Fusarium* découle de l'action de ces métabolites, qui perturbent la croissance de *Fusarium* même à faibles concentrations. En ce qui concerne les extraits métabolites de *Trichoderma ghanense* (A12E) et de *Trichoderma longibrachiatum* (A30), bien qu'ils aient montré une inhibition notable à 5 mg/ml, leurs CI50 respectives de 6,3 mg/ml et 7,92 mg/ml, ainsi que leur CMF de 10 mg/ml, les rendent moins efficaces contre *F. falciforme* par rapport à d'autres études où *Trichoderma ghanense* et *T. longibrachiatum* ont montré une inhibition plus forte contre des pathogènes comme *Rhizoctonia solani*, avec des CMF de 4,5 mg/ml (Amine, 2016). Ces résultats suggèrent que la diversité des métabolites bioactifs produits par ces champignons influence leur activité antifongique, certains composés étant plus efficaces contre certains pathogènes que d'autres. Enfin, les extraits métabolites de *Trichoderma reesei* (A21) et *Hamigera terricola* (A11E) ont présenté des performances moins marquées, avec des CI50 respectivement de 9,01 mg/ml et 9,05 mg/ml, et des CMF supérieures à 10 mg/ml. Cela suggère que ces extraits métabolites ont une activité antifongique moins prononcée contre *F. falciforme*. Cette observation est conforme aux résultats d'études antérieures, où des extraits métabolites de *Trichoderma* et *Hamigera* ont montré des effets inhibiteurs modérés contre certaines espèces de *Fusarium* (Zain *et al.*, 2014), ce qui pourrait indiquer que les métabolites de ces champignons sont plus spécifiques à certains pathogènes qu'à d'autres. En comparaison avec les recherches antérieures mentionnées précédemment, les résultats actuels ont confirmé que les extraits métabolites des espèces de *Trichoderma*, *Hamigera* et *Neurospora* utilisées au cours de cette étude sont efficaces contre des pathogènes fongiques.

---

# **CONCLUSION, PERSPECTIVES ET RECOMMANDATIONS**

## CONCLUSION

Cette étude a été réalisée dans la zone agroécologique de la région du Haut-Sassandra, zone emblématique de la production de la banane plantain en Côte d'Ivoire. Elle avait pour objectif de contribuer à assurer une agriculture durable du bananier par la détermination du potentiel microbien notamment fongique des ressources écosystémiques.

L'étude a mis en lumière l'importance de la diversité fongique dans la rhizosphère du bananier dans la région du Haut-Sassandra, en Côte d'Ivoire, et son potentiel pour favoriser une agriculture durable. L'analyse des modèles cultureux du plantain a montré que des pratiques agricoles diversifiées, telles que l'association culturale et l'utilisation de plantes de couverture, pourraient améliorer la durabilité des bananeraies face aux défis climatiques. Les résultats révèlent aussi une grande variabilité des caractéristiques physico-chimiques des sols, soulignant la nécessité d'ajustements pour optimiser la culture du bananier. La rhizosphère du bananier dans la région du Haut-Sassandra revêt d'une forte diversité des communautés fongiques, mettant ainsi en évidence l'impact notable des pratiques agricoles sur les ressources écosystémiques. Les sols des bananeraies ont révélé une grande variété de genres fongiques saprophytes dont certains sont des agents de biocontrôle (*Trichoderma*, *Hamigera* et *Neurospora*), d'autres des champignons saprophytes simples (*Acremonium*, *Bipolaris*, *Scytalidium*, *Absidia*, *Alternaria* et *Scedosporium*) et une dernière catégorie constituée de potentiels pathogènes du bananier (*Fusarium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Mucor* et *Rhizomucor*). Les agents de biocontrôle possèdent des propriétés antagonistes contre les pathogènes tels que *Mycosphaerella fijiensis* et *Fusarium falciforme*. Ils s'exercent grâce à des mécanismes complexes et variés tels que la compétition, l'antibiose ou le mycoparasitisme. L'activité de biocontrôle observée chez ces souches fongiques, ainsi que l'extraction de métabolites antimicrobiens, ouvre la voie à des alternatives écologiques aux traitements chimiques, renforçant ainsi la santé des sols et des cultures. Cette recherche souligne donc le potentiel des microorganismes des écosystèmes locaux dans la lutte biologique contre les agents phytopathogènes. L'exploitation biotechnologique de tout ce potentiel pourrait offrir une meilleure gestion des maladies du bananier et contribuer à la durabilité de la production de banane en Côte d'Ivoire.

## **PERSPECTIVES ET RECOMMANDATIONS**

Les résultats obtenus au cours de cette étude sont prometteurs et ouvrent un champ de perspectives de recherche d'intérêt pour le biocontrôle des maladies des plantes en Côte d'Ivoire. Ainsi, de manière non-exhaustive, les axes ci-dessous pourraient être explorés :

- explorer tout le microbiome du bananier plantain afin de disposer d'informations plus complètes pour une lutte biologique plus efficaces contre les maladies biotiques de cette culture en Côte d'Ivoire ;
- réaliser *in vivo* sur des bananiers des essais de confrontation « pathogènes-antagonistes » afin d'évaluer l'impact des conditions environnementales sur le profil antagoniste des agents de biocontrôles isolés ;
- trouver un mécanisme de production à grande échelle des métabolites des champignons antagonistes isolés afin de tester leur efficacité en plein champ sur des bananier malades ;
- mettre au point des biopesticides à partir des antagonistes révélés efficaces.

En recommandation, il serait intéressant d'encourager les agriculteurs aux pratiques agroécologiques (utilisation de haies vives, de plantes de couvertures, association culturale et des engrais organiques) afin d'assurer une durabilité de leur production de leurs plantations.

# RÉFÉRENCES

- Abhilasha D., Quintana N., Vivanco J. & Joshi J. (2008). Do allelopathic compounds in invasive *Solidago canadensis* s.l. restrain the native European flora?: *Solidago* in Europe: an allelopathic perspective. *Journal of Ecology*, 96 (5) : 993-1001.
- Adjiri A.O., Bintou K., Natchia A., Ibrahim D. & Brou D. (2019). Caractérisation physico-chimique et source de la minéralisation des eaux souterraines des départements de Daloa et Zoukougbeu (Côte d'Ivoire). *Journal of Applied Biosciences*, 13 (4) : 2388-2401.
- Afaf B.O. (2020). L'emploi des métabolites secondaires fongiques dans la lutte contre les maladies des plantes. Mémoire de Master, UFR des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Echahid Hamma Lakhdar d'El-Oued (Algérie), 55 p.
- Affoué B.Y., Kouakou L.K., Koffi E.K., Bi-Tié A.G. & Amadou T.G. (2019). Évaluation des impacts potentiels des changements climatiques sur les écoulements de la rivière Lobo, Centre-Ouest de la Côte d'Ivoire. *Afrique Science*, 15 (4) : 330-342.
- AFNOR (NF ISO 10390 : 2004) (2005). Qualité des sols : détermination du pH dans une solution de KCl par la méthode électrométrique. Ouvrage des Normes Françaises et Européennes, Paris (France), 2 p.
- AgroSys (2018). Utilisation de *Trichoderma* pour lutter contre les cercosporioses du bananier. Rapport de promotion 3<sup>ème</sup> année ingénieur, Montpellier (France), 8 p.
- Aguayo J., Mostert D., Fourrier-Jeandel C., Cerf-Wendling I., Hostachy B., Viljoen A. & Ioos R. (2017). Development of a hydrolysis probe-based real-time assay for the detection of tropical strains of *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense race 4. *PLoS One*, 12 (2) : 171-179.
- Ahmadou A. (2019). Réduction de la mycotoxinité dans l'agriculture malienne à partir de l'utilisation de biochar obtenu des sous-produits de la filière cajou. Thèse de Doctorat, UFR Sciences des Aliments et Nutrition, Université de Montpellier (France), 172 p.
- Ake A.L. (1987). International cooperation for effective plantain and banana research. *Proceedings of the thiered meeting IARPB (International Association for Research on Plantain and Bananas)*, 27-31 Mai 1987, Montpellier (France), pp 170-171.

- Alex P.G., Elisée A.L.N., Kouabenan A., Nakpalo S., Edwige C.A., & Daouda K. (2018). Valorisation of cassava wastewater as substrate for trichoderma virens production, bio-control agent cocoa black pod disease. *Current Journal of Applied Science and Technology*, 30 (5) : 1-8.
- Alexandre N.A.O.N. (2019). Quelles perceptions des agriculteurs pour l'agroforesterie sur les flancs de montagnes à Man (Côte d'Ivoire) ? Rapport d'étude, Université Laval, Québec (Canada), 3 p.
- Amani Y.F.C., M'bo K.A.A., Cherif M., Koné D., & Kouamé C. (2023). Diversité des Champignons Mycorhiziens à Arbuscules Associés aux Cacaoyers (*Theobroma cacao* L.) en Côte d'Ivoire. *European Scientific Journal*, 19 : 179-202.
- Amine M.B.A. (2016). Pouvoir antagoniste et mode d'action de *Trichoderma* vis-à-vis de quelques champignons phytopathogènes. Thèse de Doctorat, UFR des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Mustapha Stambouli de Mascara (Algérie), 150 p.
- Aouar L., Inas A.B., Benadjila H., Medjoudj Z., Mourad A. (2019). *Streptomyces griseus* Lac1 : Biocontrôle et propriétés promotrices de la croissance des plantes. *Revue des BioRessources*, 9 : 27-37.
- Aref M. & Heded M. (2015). Contribution à l'étude phytochimique, les activités biologiques (Antioxydante et Antibactérienne) d'une plante médicinale *Cleome arabica* L (Région d'Oued Souf). Mémoire de Master, UFR de Biochimie Appliquée, Université Echahid Hamma Lakhdar d'El-Oued (Algérie), 57 p.
- Assri A.A., Yoro G.R., Deheuvels O., Kébé B.I, Keli Z.J., Adiko A. & Assa A. (2009). Les caractéristiques agronomiques des vergers de cacaoyer (*Theobroma cacao* L.) en Côte d'Ivoire. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 2 (1) : 55-66.
- Audrey P. (2015). Etude de la filière Banane Plantain en Côte d'Ivoire. Rapport de la promotion et de la commercialisation de la Banane Plantain et du Manioc en Côte d'Ivoire / cabinet du Comité Français pour la Solidarité Internationale (CFSI), Reims (France), 62 p.

- Aurélié L. (2013). Caractérisation et identification des champignons filamenteux par spectroscopie vibrationnelle. Thèse de Doctorat, UFR des Sciences Agronomiques, Université de Reims Champagne-Ardenne (France), 194 p.
- Ayer W.A., Craw P.A. & Nozawa K. (1991). Deux métabolites de la 1 H-naphtho [2, 3-c] pyran-1-one du champignon *Paecilomyces variotii*. *Revue Canadienne de Chimie*, 69 (2) : 189-191.
- Baddi M., Nassik S., Alali S. & El-hraiki A. (2021). L'impact économique et sanitaire des mycotoxines entre aujourd'hui et demain. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 9 (3) : 339-347.
- Baize D. (2018). Guide des analyses en pédologie. In: *INRA 2<sup>ème</sup> édition*. Edition Quae, Montpellier (France) : 1-328.
- Bakry F., Jenny C. & Carreel F. (1997). Les bananiers. In: *L'amélioration des plantes tropicales*. Edition Quae, Montpellier (France) : 109-139.
- Bakry F., Louis M.R., Françoise C., Jean L.N., Franc C.B., Jean P.H., Hugues T.J.G., Claire L. & Pierre J.L. (2005). Diploid ancestors of triploid export banana cultivars: molecular identification of 2n restitution gamete donors and n gamete donors. *Molecular Breeding*, 16 : 333-341.
- Bell C.W., Acosta-Martinez V., McIntyre N.E., Cox S., Tissue D.T. & Zak J.C. (2009). Linking microbial community structure and function to seasonal differences in soil moisture and temperature in a Chihuahuan desert grassland. *Microbial ecology*, 58 : 827-842.
- Benabderrahmane k. & Ziane M. (2022). Modélisation de la croissance des moisissures mycotoxinogènes dans l'alimentation de volaille cas de la Wilaya de Ain Temouchent. Mémoire de Master, UFR des Sciences et de Technologie, Université Ain Temouchent- Belhadj Bouchaib (Algérie), 64 p.
- Bendjeddou M.B. & Ismahan H.A. (2023). Activités biologiques des métabolites secondaires des microalgues : Recherche bibliographique. Mémoire de Master, UFR des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, Université Mouloud Mammeri (Algérie), 55 p.

- Benmehidi O. & Boukaabache Y. (2018). Pépinière des principales maladies fongiques du blé dur dans la région de Constantine. Mémoire de Master, UFR des Sciences de la Nature et de la Vie, Université des Frères Mentouri Constantine (Algerie), 87 p.
- Berber F., Amina O., Alain B. & Allal D. (2009). Antagonisme in vitro et in vivo de deux *Trichoderma* à l'égard de quatre espèces de *Bipolaris* pathogènes sur le sorgho. *Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux*, 148 : 93-114.
- Bettou M. & Righi M. (2018). Contribution à la lutte chimique et biologique contre l'agent causal de la tache septorienne du blé « *Zymoseptoria tritici* » in vitro. Mémoire de Master, UFR des Sciences de la Nature et de la Vie, Université des Frères Mentouri Constantine (Algerie), 66 p.
- Bezzaz N. (2013). Détermination structurale des métabolites secondaires et extraction des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia*. Thèse de Doctorat, UFR de Chimie Organique, Université de M'sila Mohamed Boudiaf (Algérie), 114 p.
- Bi-Voko, D.R.R., Ahonzo-Niamke S.L. & Zeze A. (2013). Impact des propriétés physico-chimiques des sols de culture du manioc sur l'abondance et la diversité des communautés de champignons mycorhiziens à arbuscules dans la zone agroécologique d'Azaguié, Sud-Est de la Côte d'Ivoire. *Agronomie Africaine*, 25 (3) : 251-264.
- Boissier M. (2003). Étude et compréhension des phénomènes environnementaux régissant la colonisation des produits de construction par les aérosols fongiques : Application à l'hygiène des environnements intérieurs. Thèse de Doctorat, UFR des Sciences et de Technologie, Université Paris XII-Val de Marne (France), 133 p.
- Botton B., Breton A. & Fèvre M. (1990). Moisissures utiles et nuisibles. In : *importance industrielle (Vol. 2)*. Edition Masson, Paris (France) : 17-275
- Bouchonnet S. & Libong D. (2004). Le couplage chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse. *Actualité Chimique*, 16 : 7-14.
- Bougnoux M.É., Lacroix C., Hassouni N., Beretti J.L. & Dauphin B. (2011). Intérêt de la spectrométrie de masse de type MALDI-TOF pour l'identification des champignons filamenteux. *Bio Tribune Magazine*, 1 (40) : 45-49.

- Boukhari F. (2017). Extraction et analyse de l'huile essentielle et des métabolites secondaires lourds de *Juglans regia* L. "étude pharmacologique". Thèse de Doctorat, UFR de Chimie, Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene (Algérie), 166 p.
- Bouko B.S., Sinsin B. & Soulé B.G. (2007). Effets de la dynamique d'occupation du sol sur la structure et la diversité floristique des forêts claires et savanes au Bénin. *Tropicultura*, 25 (4) : 221-227.
- Boutiba S., Khelifi T., Promotrice M.S. & Co-promotrice M.M. (2021). Inventaire des champignons des sols rhizosphériques du pistachier de l'Atlas de dayate El Gouffa (Laghouat, Algérie). Mémoire de Master, UFR des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou (Algerie), 46 p.
- Bowman S.M. & Free S.J. (2006). The structure and synthesis of the fungal cell wall. *Bioessays*, 28 (8) : 799-808.
- Bridge J., Fogaine R. & Speijer P. (1997). Les nématodes parasites des bananiers. Rapport de l'étude parasites et ravageurs de *Musa* / fiche technique n° 2, 8 p. <http://www.sidalc.net/pdf>.
- Brou Y.T., N'Goran J.A.K., Bicot S. & Servat E. (2003). Risque climatique et production agricole en Côte d'Ivoire : effet des variations pluviométriques sur la production cacaoyère. *14<sup>ème</sup> conférence internationale sur la recherche cacaoyère*, 18-23 octobre 2003, Accra, Ghana, pp 259-267.
- Brun J. (1963). La cercosporiose du bananier en Guinée. Rapport d'étude de l'Institut Français de Recherches Fruitières Outre-Mer sur la phase ascosporee de *Mycosphaerella musicola*, 17 p.
- Calvet G. & Villemin P. (1986). Interprétation des analyses de terre. Rapport d'étude de la Société Civile des Producteurs Associés (SCPA), Paris (France), 24 p.
- Cantu D., Greve L.C., Labavitch J.M. & Powell A.L. (2009). Characterization of the cell wall of the ubiquitous plant pathogen *Botrytis cinerea*. *Mycological Research*, 113 : 1396-1403.
- Caquet T. (2014). Des systèmes innovants face au changement climatique, *Science & impact*, 26 : 697-705.

- Cardon C., Durchon M. & Porchet M. (1981). Purification par chromatographie liquide de haute pression (HPLC) de l'hormone cérébrale chez *Nereis diversicolor* et *Perinereis cultrifera* (Annélides Polychètes). *Reproduction Nutrition Développement*, 21 (3) : 383-390.
- Carlier J., De-Waele D. & Escalant J.V. (2003). Evaluation globale de la résistance des bananiers à la fusariose, aux maladies foliaires causées par les *Mycosphaerella* spp. et aux nématodes. Guides techniques n° 7 du Réseau International pour l'Amélioration de la Banane et de la Banane plantain, Montpellier (France), 62 p.
- Carpentier C. (2016). Investigations phytochimiques de lichens soumis au stress de la nordicité. Mémoire de Maîtrise, UFR des Sciences et de Génie, Université Laval de Québec (Canada), 35 p.
- Cazabonne J. (2024). Influence du type de sol et de la zonation verticale sur les communautés fongiques dans les pinèdes grises naturelles des écosystèmes d'eskers. Thèse de Doctorat, UFR des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Québec Abitibi-Témiscamingue (Canada), 142 p.
- Chabane R. (2023). Étude de l'importance des amibes libres présentes dans les sources thermales et bains maures dans la région de Tizi-Ouzou. Mémoire de Master, UFR des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, Université Mouloud Mammeri (Algérie), 75 p.
- Chabasse D., Guiguen C. & Contet-Audonnet N. (2002). Mycologie médicale. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 44 : 144-145.
- Chalearmsrimuang T., Ismail S.I., Mazlan N., Suasaard S., & Dethoup T. (2019). Marine-derived fungi: A promising source of halo tolerant biological control agents against plant pathogenic fungi. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 13 (1) : 209-223.
- Champion J. (1963). Le Bananier. In : *bananier*. Edition Maisonneuve et Larose, Paris (France) : 1-263.
- Chanzy A., Martin G., Colbach N., Gosme M., Launay M., Loyce C. & Novak S. (2015). Adaptation des cultures et des systèmes de culture au changement climatique et aux

- nouveaux usages. Rapport technique de mission de l'Institut National de la Recherche Agronomique, Paris (France), 29 p.
- Cheze M., Deveaux M. & Pépin G. (2005). Identification et dosage de toxiques végétaux par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse tandem (LC-MS/MS). Revue de la littérature et expérience du laboratoire Toxlab. In : *Annales de Toxicologie Analytique* (Vol. 17 N°1). Edition EDP Sciences, Paris (France) : 43-53.
- CIRAD (2023). Recueil statistique banane. Rapport du bilan annuel 2023, Abidjan (Côte d'Ivoire), 17 p.
- Clémentine K.K.A., Mesmin K.Y., Honora D.T.B.F. & Kablan T. (2019). Activité antifongique *in vitro* des extraits de cinq plantes locales sur *Colletotrichum higginsianum*, *Fusarium oxysporum* et *Rhizopus stolonifer*, agents pathogènes de la papaye (*Carica papaya* L.) et de la tomate (*Solanum lycopersicum* L.). *European Scientific Journal*, 15 (9) : 304-321.
- Cline M.N. & Jacobsen B.J. (1983). Methods for evaluating soybean cultivars for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Disease*, 67 : 784-786.
- Cordeau S., Maron P. A., Sarthou J. P. & Chauvel B. (2024). L'agriculture de conservation des sols, Quae, Versailles (France), 420 p.
- Cordova L.J., Gutierrez R.M., Huerta S., Saucedo-Castaneda G. & Favela T.E. (1996). Biomass estimation of *Aspergillus niger* growing on real and model supports in solid state fermentation. *Biotechnology Technology*, 10 : 1-6.
- Coussirou A. (2023). Mise à disposition du Lu-PSMA-1 au centre Henri Becquerel. Mémoire de Master, UFR des Sciences Pharmaceutiques, Université de Rouen Normandie (France), 55 p.
- Creste S., Tulmann A., Oliveira N.S. & Figueira A. (2003). Genetic characterization of banana cultivars (*Musa* spp.) from Brazil using microsatellite markers. *Euphytica*, 132 : 259-268.
- Curl E.A. & Truelove B. (2012). The rhizosphere. Edition Springer Science & Business Media Berlin (Allemagne), 289 p.

- Da Silva P. (2004). Etude structurale et dynamique par résonance magnétique nucléaire, d'une protéine de transfert de lipides isolée dans le tabac. Thèse de Doctorat, UFR de Biophysique, Université d'Orleans (France), 105 p.
- Daghache RSN. (2021). Etude de l'activité antifongique des champignons endophytes isolés à partir du citron *Citrus limon*. Mémoire de Master, UFR des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi – B.B.A. (Algerie), 38 p.
- Davet P. (1996). Vie microbienne du sol et production végétale. Rapport d'étude de l'INRA, Paris (France), 5257 p.
- Debbi A. (2019). Etude de la diversité génétique de *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici agent du flétrissement de la tomate et recherche de l'effet antagoniste de *Trichoderma* spp. à l'égard de l'agent pathogène. Thèse de Doctorat, UFR de l'Agronomie, Ecole Nationale Supérieure Agronomique-Khalef Abdellah alias Kasdi Merbah (Algérie), 165 p.
- Dedi J.K.Y., Allou K.R. & Otchoumou A. (2015). Inventory of fungal flora and identification of different horizons of the profile in banana plantation in Cote d'Ivoire. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9 : 1419-1430.
- Devi R., Kaur T., Guleria G., Rana K.L., Kour D., Yadav N. & Saxena A.K. (2020). Fungal secondary metabolites and their biotechnological applications for human health. *In : New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering*. Edition Elsevier, Amsterdam (Pays-Bas) : 147-161.
- Dhed'a V., Moango A. & Swennen J. (2011). La culture des bananiers et bananiers plantains en République Démocratique du Congo. Rapport - Support didactique, Kinshasa (Congo), 88 p.
- Dita M.A., Waalwijk C., Buddenhagen I.W., Souza J.M.T. & Kema G.H.J. (2010). A molecular diagnostic for tropical race 4 of the banana *Fusarium* wilt pathogen. *Plant Pathology Journal*, 59 : 348-357.
- Djetji T., Hammache M., Boulaouad B.A. & Doumandji S. (2015). L'arthropodofaune de la culture du maïs dans deux étages bioclimatiques différents en Algérie. Rapport de l'Association pour la Conservation de la Biodiversité dans le Golf Gabes, Alger (Algérie), 7 p.

- Dodds J. & Baluais G. (1993). Caractérisation de la taille des particules. *Sciences Géologiques, Bulletins et Mémoires*, 46 (1) : 79-104.
- Dudek K., Michlewicz M., Dudek M. & Tryjanowski P. (2016). Invasive Canadian goldenrod (*Solidago canadensis* L.) as a preferred foraging habitat for spiders. *Arthropod-Plant Interactions*, 10 : 377–381.
- Dumestre A., Bousserrhine N. & Berthelin J. (1997). Biodégradation des cyanures libres par le champignon *Fusarium solani* : relation avec le pH et la distribution des espèces cyanurées en solution. *Earth and Planetary Science*, 325 (2) : 133-138.
- Ellis M.L., Jimenez D.R.C., Leandro L.F. & Munkvold G.P. (2014). Genotypic and phenotypic characterization of fungi in the *Fusarium oxysporum* species complex from soybean roots. *Phytopathology*, 104 (12) : 1329-1339.
- El-Mrabet S., Msanda F., El-Mousadik A. & Ouahmane L. (2017). Evaluation du pouvoir mycorhizien des sols rhizosphériques de *Chamaecytisus albidus* et *Ononis natrix* dans la production de plants de qualité d'*Argania spinosa* (L.) Skeels. *American Journal of Innovative Research & Applied Sciences*, 4 (2) : 44-51.
- Eric F. & Luc L. B. (2020). Maladies et ravageurs de la banane. *FruiTrop*, 269 : 104-112.
- Erukhimovitch V., Karpasasa M. & Huleihel M. (2009). Spectroscopic detection and identification of infected cells with herpes viruses. *Biopolymers*, 91 (1) : 61-77.
- FAO (2023). Côte d'Ivoire : hausse de 4 % des exportations de bananes à 340 000 tonnes en 2023. Rapport annuel d'étude sur la filière banane, Abidjan (Côte d'Ivoire), 15 p.
- Faso B. (2010). Etude de la Bio-dépollution de Sols contaminés par les Hydrocarbures au Burkina Faso. *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, 30 : 19-28.
- FIRCA (2014). Répertoire des technologies diffusées : racine, tubercule et plantain (RTP) en Côte d'Ivoire. Rapport annuel FIRCA, Abidjan (Côte d'Ivoire), 42 p.
- FIRCA (2017). Répertoire des technologies diffusées : racine, tubercule et plantain (RTP) en Côte d'Ivoire. Rapport final FIRCA, Abidjan (Côte d'Ivoire), 56 p.
- Fouré E., Mouliom P.A. & Mourichon X. (1990). Etude de la sensibilité variétale des bananiers, des plantains à *Mycosphaerella fijiensis* Morelet au Cameroun / Caractérisation de

- la résistance au champ de bananiers appartenant à divers groupes génétiques. *Fruits*, 45 (4) : 339-345.
- Freschet G.T., Violle C., Roumet C. & Garnier E. (2018). Interactions entre le sol et la végétation : structure des communautés de plantes et fonctionnement du sol. Les sols au cœur de la zone critique. *Écologie*, 6 : 83-104.
- Frison E.A. & Sharrock S. (1998). The economic social and nutritional importance of banana in the world / Les productions bananières : un enjeu économique majeur pour la sécurité alimentaire. *5th International Symposium on Bananas and food security*, 23-25 November 1998, Douala, Cameroun, pp 10-14.
- Fulgence K.A. & Évariste T.Y.K. (2023). Usage des TIC dans l'Approvisionnement de la Région du Haut-Sassandra en Produits Carburants. *European Scientific Journal*, 19 (17) : 49-68.
- Gagnard J., Huguet C. & Ryser J.P. (1988). L'analyse du sol et du végétal dans la conduite de la fertilisation, le contrôle de la qualité des fruits. Rapport d'étude du Secrétariat générale OILB/SROP, Edition - Diffusion ACTA, Paris (France), 87 p.
- Gasparotto L., Pereira J., Clério R., Urban A.F., Hanada R.E. & Pereira C.N. (2005). *Heliconia psittacorum*: hospedeira de *Mycosphaerella fijiensis*, agente causal da Sigatoka-negra da bananeira. *3th conference for Fitopatologia Brasileira*, 2005, Brazil, pp 423-425.
- Gawryjolek K., Furtak K., Grzadziel J. & Galazka A. (2021). Identification and characterization of metabolic potential of different strains from genus *Rhizobium*. *Multidisciplinary Digital Publishing Institute Proceedings*, 3 : 4-19.
- Gomes A. & Korf B. (2018). Genetic Testing Techniques. In : *Pediatric Cancer Genetics*, Edition Elsevier, Amsterdam (Pays-Bas) : 47-64.
- Gopalakrishnan S., Sathya A., Vijayabharathi R., Varshney R.K., Gowda C.L. & Krishnamurthy L. (2015). Plant growth promoting rhizobia: challenges and opportunities. *Biotechnologie*, 5 : 355-377.
- Guengant J.P. (2007). La démographie africaine entre convergences et divergences. L'Afrique face à ses défis démographiques. *AFD-Ceped-Karthala*, 19 : 27-121.

- Gueribis F. (2020). Extraction et purification de métabolites purs de *Dittrichia (Inula) viscosa* (L.) Greuter et Evaluation de leur activité biologique à l'égard de quelques bioagresseurs des cultures. Thèse de Doctorat, UFR de l'Agronomie, Ecole Nationale Supérieure Agronomique-Khalef Abdellah alias Kasdi Merbah (Algérie), 175 p.
- Gupta N. (2019). DNA Extraction and Polymerase Chain Reaction. *Journal of Cytology*, 36 (2) : 116-117.
- Haddouchi F., Zerhouni K., Sidi-Yekhelef A. & Chaouche T.M. (2016). Évaluation de l'activité antimicrobienne de différents extraits de *Helichrysum stoechas* subsp. rupestre. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 85 : 152-159.
- Haïcour R., Viet B.T., Dhed'a D., Assani A., Bakry F. & Côte F.X. (1998). La sécurité alimentaire : perspectives d'amélioration des bananiers par voie biotechnologique. *Cahiers Agricultures*, 7 (6) : 468-475.
- Hamel A. (2016). Etude de l'antagonisme de *Trichoderma* sp. vis-à-vis le *Fusarium* sp. agent de la fusariose du blé en Algérie. Mémoire de Master, UFR des Sciences Agronomie, Université M'Hamed BOUGARA de Boumerdès (Algérie), 99 p.
- Hamlaoui S. & Benamer K. (2018). Etude comparative de quelques paramètres morphologique et biochimique chez sept variétés de blé dur (*Triticum durum*. Desf) dans la région de Constantine. Mémoire Master, UFR Biologie Et Ecologie Végétale, Université des Frères Mentouri Constantine 1 (Algérie), 76 p.
- Harman G.E., Custis D. & Shores M. (2006). Plant genomic and environmental factors that affect the abilities of *Trichoderma* spp. to induce plant resistance and increased growth. *9th International Workshop on Trichoderma and Gliocladium*, 15-17 Mach 2006, Vienna, Austria, pp 42-84.
- Hedegla A.N.A.M. (2022). Analyse des systèmes de production et des besoins en formation des producteurs pour le développement durable de la filière banane plantain au Benin. Mémoire de Master, UFR des Sciences de Gestion, Ecole Supérieure de Gestion et de Technologie, Cotonou (Benin), 90 p.

- Hessas T. & Simoud S. (2018). Contribution à l'étude de la composition chimique et à l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Thymus* sp. Thèse de Doctorat, UFR Médecine, Université de Tizi Ouzou (Algérie), 177 p.
- Hmouni A, Hajlaoui M.R. & Mlaiki A. (1996). Résistance de *Botrytis cinerea* aux benzimidazoles et aux dicarboximides dans les cultures abritées de tomate en Tunisie. *OEPP/EPPO bulletin*, 26 : 697-705.
- Horn B.W. (2006). Relationship between soil densities of *Aspergillus* species and colonization of wounded peanut seeds. *Canadian Journal of Microbiology*, 52 : 951-960.
- Howell C.R. (2002). Cotton seedling preemergence dampingoff incited by *Rhizoctonia oryzae* and *Pythium* spp. and its biological control with *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, 92:177-180.
- Huang X., Duan N., Xu H., Xie T.N., Xue Y.R. & Liu C.H. (2018). CTAB-PEG DNA Extraction from Fungi with High Contents of Polysaccharides. *Molecular Biology*, 52 (4) : 718–726.
- Idi-Issa S. (2022). Impacts du travail du sol et de la gestion des résidus sur l'activité des microorganismes et le stockage de carbone. Mémoire de Master, UFR Agroécologie, Université de Liège (Belgique), 84 p.
- Jacome L., Lepoivre P., Marin D., Ortiz R., Romero R. & Escalant J.V. (2003). *Mycosphaerella* leaf spot diseases of bananas: present status and outlook. *Proceedings of the 2nd international workshop on Mycosphaerella leaf spot diseases held in San José* (Costa Rica), 20-23 May 2002, Montpellier, France, 318 p.
- Jaegers F.C. (2024). Rooting for Resilience: Unveiling Absorptive Fine Root Traits and Fungal Dynamics in Young Temperate Trees Under High and Low Growing Season Water Availability. Thèse de Doctorat, UFR de la Biologie, Université du Québec à Montréal (Canada), 216 p.
- Johanson A. (1995). Detection of banana leaf spot pathogens by PCR 1. *EPPO Bulletin*, 25 (1-2) : 99-107.
- Karaffa L., Sandor E., Fekete E. & Szentirmai A. (2001). The biochemistry of citric acid accumulation by *Aspergillus niger*. *Acta Microbiologica Immunologica Hungarica*, 48 (3-4) : 429-440.

- Kassi F.M., Badou O.J., Tonzibo Z.F., Salah Z., Amari L.N.D.G.E. & Kone D. (2014). Action du fongicide naturel NECO contre la cercosporiose noire (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) chez le bananier plantain (AAB) en Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences*, 75 : 6192-6201.
- Köhl J., Kolnaar R. & Ravensberg W.J. (2019). Mode of action of microbial biological control agents against plant diseases: relevance beyond efficacy. *Frontiers in Plant Science*, 10 : 845-864.
- Kouakou E.A., Ludovic T., Syndhia M. & Alexandre A. (2016). Plateformes d'innovation comme dispositif d'orientation des trajectoires technologiques des filières agricoles : cas de la filière banane plantain en Côte d'Ivoire. Rapport final du CIRAD, Montpellier (France), 18 p.
- Kouakou J.L., Gonedele-Bi S., Assamoi J.B. & Assanvo N'guetta S.P. (2022). Optimization of the cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) DNA extraction protocol using forest elephant dung samples. *MethodsX*, 9 : 1-12.
- Kouamé A.N., Konan E.K., Konan A.A. & Albert Y.K. (2019). Stratégies et pratiques paysannes de gestion durable de la fertilité des sols dans le département de Korhogo au Nord de la Cote d'Ivoire. *Afrique Science*, 15 (4) :245-258.
- Kouassi K. (2006). Rôle des ressources génétiques dans l'essor du secteur bananier plantain en Côte d'Ivoire. Rapport d'activité 2006 / Document CNRA, Abidjan (Côte d'Ivoire), 32 p.
- Kra D.K., Diallo H.A. & Kouadio Y.J. (2009). Activités antifongiques de l'extrait de *chromolaena odorata* (L.) king & Robins sur deux isolats de *Fusarium oxysporum* (E.F. Sm.) responsables du jaunissement mortel des feuilles des bananiers. *Journal of Applied Biosciences*, 24 : 1488-1496.
- Krishnamoorthy V. (2002). Amélioration du bananier (*Musa* spp.) pour la résistance à la maladie de Sigatoka et aux Nématodes. Thèse de Doctorat, Department of fruit Crops Horticultural College and Research Institute, Université de Tamil Nadu Agriculture (Inde), 156 p.
- Kwa M., & Temple L. (2019). Le bananier plantain, Quae, Versailles (France), 184 p.

- Lamoril J., Ameziane N., Deybach J.C., Bouizegarène P. & Bogard M. (2008). Les techniques de séquençage de l'ADN : une révolution en marche. Première partie. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*, 23 (5) : 260-279.
- Laprade C.S. & Ruiz R.B. (1999). Productive behaviour of FHIA-01 (AAAB) and FHIA-02 (AAAB), under inorganic and organic fertilization programmes. Study report – Organic / environmentally friendly banana production, Guácimo (Costa Rica), 175 p.
- Lassoudiere A. (2007). Le bananier et sa culture, Quae, Versailles (France), 383 p.
- Lassoudière A. (2010). L'histoire du bananier, Quae, Versailles (France), 351 p.
- Lee S.B., Milgroom M.G. & Taylor J.W. (1988). A rapid, high yield miniprep method for isolation of total genomic DNA from fungi. *Fungal Genetics Newsletter*, 35 (1) : 123-124
- Leghlimi H. (2020). Cellulase de souches fongiques issue du sol d'un milieu extrême (sol proche de sources thermales) : sélection des souches et étude des caractéristiques des enzymes. Thèse de Doctorat, UFR des Sciences Microbiologie, Université de Reims Champagne-Ardenne (France), 150 p.
- Leghlimi H., Meraihi Z., Boukhalfa-Lezzar H., Copinet E. & Duchiron F. (2013). Production and characterization of cellulolytic activities produced by *Trichoderma longibrachiatum* (GHL). *African Journal of biotechnology*, 12 (5) : 347-387.
- Lepoivre P. (2003). La phytopathologie, De Boeck, Louvain-la-neuve (Belgique), 165 p.
- Lescot T. (2006). Estimation de la production et du commerce bananier mondial. *Fruiti'rop*, 140 : 6-9.
- Lheureux F., Carreel F., Jenny C., Lockhart B. & Iskra C.M. (2003). Identification of genetic markers linked to banana streak disease expression in inter-spécifie *Musa* bybrids. *Theoretical and Applied Genetics*, 106 (4) : 594-598.
- Lopez J.A.C. (1998). Isolement, identification et physiologie des champignons thermophiles en vue de la production de lipases par fermentation en milieu solide. Thèse de Doctorat, UFR Biochimie et Biologie Moléculaire, Université Montpellier 2 des Sciences et Techniques du Languedoc (France), 267 p.

- Maachi S., Trari F. & Madani H.E. (2024). Caractérisation phytochimique et Activités biologiques de quelques algues marines d'Algérie. Mémoire de Master, UFR des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Ibn Khaldoun-Tiaret (Algérie), 75 p.
- Maquelin K., Kirschner C., Choo S.L.P., Van D.B.N., Endtz H.P. & Naumann D. (2002). Identification of medically relevant microorganisms by vibrational spectroscopy. *Journal Microbiology Methods*, 51 (3) : 255-271.
- Marin S., Ramos A.J., Cano S.G. & Sanchis V. (2013). Mycotoxins: Occurrence, toxicology, and exposure assessment. *Food and Chemal Toxicology*, 60 : 218-237.
- Martins G.M. (2012). Communautés microbiennes de la baie de raisin : Incidence des facteurs biotiques et abiotiques. Thèse de Doctorat, UFR des Sciences Agronomiques, Université de Bordeaux Ségalen (France) 289 p.
- Mathata M.P.O. (2020). Entrepreneuriat féminin et autonomisation économique des femmes commerçantes en Côte d'Ivoire : une approche historique. Document de recherche de l'observation de la francophonie économique. Edition Les Cahiers de l'OFÉ, Montréal (Canada), 13 p.
- Mathivanan N., Prabavathy V.R. & Vijayanandraj V.R. (2008). The effect of fungal secondary metabolites on bacterial and fungal pathogens. In: *Secondary Metabolites in Soil Ecology*. Edition Springer, New York (USA) : 129–140.
- Memel F.A. (2023). Les marqueurs spatiaux de la crise urbaine à Bonoua. *Revue Internationale du chercheur*, 4 (2) : 624-648.
- Meraj U.H. & Nandkar P.B. (2012). Antagonistic effect of rhizospheric *Trichoderma* isolates against tomato damping-off pathogen, *Fusarium oxysporum* f.sp. lycopersici. *International Journal of Research in Biosciences*, 1 : 27-31.
- Merzouk M. & Niboucha C. (2020). Contribution à l'étude phytochimique des plantes médicinales Algériennes : le genre *Centaurea*, les flavonoïdes et leurs méthodes d'identification. Mémoire de Master, UFR des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Constantine 1 Frères Mentouri (Algérie), 66 p.
- Merzouki B.D. (2018). Etude de la production et de l'activité biologique de solanapyrone A. Thèse de Doctorat, UFR des Sciences Agronomiques, Université Ferhat Abbas Sétif 1, (Algérie) 223 p.

- Meven C. (2015). Effet de l'ombrage sur le microclimat, la fertilité du sol et la production du caféier au Costa Rica. Mémoire de Master, UFR des Sciences Agronomiques, Agroalimentaires, Horticoles et du Paysage, Université de Rennes 1(France), 34 p.
- Mohammedi H. (2019). Extraction et caractérisation physico-chimique des métabolites secondaires de *Ruta L.*, *Ammodaucus leucotrichus* et *Bassia muricata* L. Thèse de Doctorat, UFR Chimie, Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene (Algérie), 162 p.
- Mokrini F., Essarioui A. & Sbaghi M. (2020). Diversité des nématodes phytoparasites associés à la culture du framboisier dans la région de Souss-Massa. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 8 (3) : 17-39.
- Morin O. (1994). *Aspergillus* et aspergilloses : biologie / Maladies infectieuses. In : *Techniques Encyclopédie Médico-Chirurgicale*. Edition Elsevier, Paris (France) : 8-600.
- Mory C. (2020). Validation d'une méthode de dosage du Vémurafénib par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) à partir d'une goutte de sang séché (DBS) : application dans une cohorte pédiatrique atteinte d'histiocytose langerhansienne. Thèse de Doctorat, UFR Santé, Université de Rouen Normandie (France), 107 p.
- Mosso K., Kouadio N. & Nemlin G.J. (1996). Transformation traditionnelle de la banane, du manioc, du taro et de l'igname dans les régions du Centre et du Sud de la Côte d'Ivoire. *Industries Alimentaires et Agricoles*, 113 (3) : 91- 96.
- Mouhajir A. (2018). Caractérisation moléculaire et épidémiologique de pathogènes fongiques émergents dans la mucoviscidose : *Scedosporium* spp. et *Rasamsonia* spp. Thèse de Doctorat, UFR Biologie, Université Moulay Ismaïl (Maroc), 149 p.
- Mouria B., Ouazzani-Touhami A. & Douira A. (2013). Isolement et identification de la mycoflore du compost des déchets urbains solides. *Nature & Technology*, 9 : 13-29.
- Muirhead I.F. & Jones D.R. (2000). Anthracnose. In: *Diseases of Banana, Abacá and Enset*. Edition CABI, Wallingford (Angleterre) : 199-203.

- Mulaw T.B., Druzhinina I.S., Kubicek C.P. & Atanasova L. (2013). Novel endophytic *Trichoderma* spp. isolated from healthy *Coffea arabica* roots are capable of controlling coffee tracheomycosis. *Diversity*, 5 (4) : 750-766.
- Mullis K., Faloona F., Scharf S., Saiki R., Horn G. & Erlich H. (1986). Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 51 (1) : 263-273.
- Munier R.L. (1968). La chromatographie sur couche mince : principes et possibilités. *Qualitas Plantarum et Materiae Vegetabiles*, 16 : 12-34.
- Naily I.E. & Bouguir I. (2022). Contribution à l'étude des nématodes de la culture de vigne de la Vallée d'El Malah wilaya d'Ain Temouchent. Mémoire de Master, UFR des Sciences et de la Technologie, Université d'Ain-Temouchent Belhadj Bouchaib (Algérie), 71 p.
- Naon A. (2019). Perceptions des agriculteurs pour l'agroforesterie sur les flancs de montagne de man en Côte d'Ivoire. Mémoire de Master, UFR Agroforesterie, Université Laval (Canada), 79 p.
- Nasraoui B. (2008). Principales maladies fongiques des céréales et des légumineuses en Tunisie. Main Fungal diseases of cereals in Tunisia. Thèse de Doctorat, UFR des Sciences Agronomiques, Ecole Supérieure d'Agriculture du Kef (Tunisie), 114 p.
- Nasraoui B. (2015). Les champignons et pseudo-champignons pathogènes des plantes cultivées : Biologie, Nouvelle Systématique, Interaction Pathologique. Fiche technique de l'Institut National Agronomique de Tunisie (INAT), 180 p.
- Nawaz K. Shahid A.A, Bengyella L., Subhani M.N, Ali M., Anwar W., Iftikhara S. & Ali S.W. (2018). Diversity of *Trichoderma* species in chili rhizosphere that promote vigor and antagonism against virulent *Phytophthora capsici*. *Scientia Horticulturae*, 239 : 242-252.
- Ndowora T., Dahal G., Lafleur D., Harper G., Hull R., Olszewski N.E. & Lockhart B. (1999). Evidence that badnavirus infection in *Musa* can originate from integrated pararetroviral sequences. *Virology*, 255 (2) : 214-220.
- Niemz A., Ferguson T.M. & Boyle D.S. (2011). Point-of-care nucleic acid testing for infectious diseases. *Trends in Biotechnology*, 29 (5) : 240–250.

- Nkendah R. & Akyeampong E. (2003). Données socioéconomiques sur la filière plantain en Afrique Centrale et de l'Ouest. *InfoMusa*, 12 (1) : 8-12.
- Noemie L. (2010). Lutte biologique aux ravageurs : Applicabilité au Québec. Thèse de Doctorat, UFR Environnement, Université de Sherbrooke (Canada), 103 p.
- Nyabyenda P. (2006). Les plantes cultivées en régions tropicales d'altitude d'Afrique : Cultures industrielle et exploitation, cultures fruitières, cultures maraîchères. Rapport d'étude des presses Agronomiques de Gembloux, Gembloux (Belgique), 238 p.
- Onautshu O., Légrève A. & Dheda D. (2013). Caractérisation des populations de *Mycosphaerella fijiensis* et épidémiologie de la cercosporiose noire du bananier dans la région de Kisangani, RDC. Rapport d'étude de l'Université Catholique de Louvain (Belgique), 26 p.
- Orlici Z. & Benkara O. (2018). Contribution à l'étude de la flore fongique des semences de blé dur de campagne dans la région Nord de Constantine. Mémoire de Master, UFR Biologie, Université des Frères Mentouri Constantine 1 (Algérie), 83 p.
- Ouali M. & Yaddaden N. (2019). Diversité des champignons du sol sous *Pistacia atlantica* Desf. dedayate El-Gouffa (Laghouat, Algérie). Mémoire de Master, UFR des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou (Algérie), 65 p.
- Ouattara G. (2015). Évaluation agrophysiologique d'itinéraires techniques élaborés pour une production rentable de *Ananas comosus* (L.) Merr. var. MD2 (bromeliaceae) en Côte d'Ivoire. Thèse de Doctorat, UFR Biosciences, Université Félix-Houphouët-Boigny, Abidjan (Côte d'Ivoire), 204 p.
- Padmanaban B. & Sathiamoorthy S. (2001). Le charançon du pseudo-tronc du bananier : *Odoiporus longicollis* (Parasites et ravageurs de *Musa*). Rapport d'étude de l'INIBAP sur les ravageurs du bananier / Fiche technique n°5, Montpellier (France), 4 p.
- Pansu M. & Gautheyrou J. (2006). Handbook of soil analysis: mineralogical, organic and inorganic methods. Springer, New York (USA), 1016 p.

- Pegg K.G., Moore N.Y. & Bentley S. (1996). *Fusarium* wilt of banana in Australia: a review. *Australian Journal of Agricultural Research*, 47(5) : 637- 650.
- Péréfarres F. (2006). Etude de la prévalence et de la diversité des populations de virus de la mosaïque en tirets du bananier (BSV) et de virus X du bananier (BVX) en Guadeloupe. Mémoire de Master, UFR Biologie et Technologies du Végétal, Université d'Angers (France), 38 p.
- Perez-Vincente L., Dita M.A. & De L.P.E.M. (2014). Technical manual prevention and diagnostic of *Fusarium* wilt (Panama disease) of banana caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense tropical race 4 (TR4). Study report - FAO, Rome (Italie), 74 p.
- Pettersson M. & Baath E. (2003). Temperature-dependent changes in the soil bacterial community in limed and unlimed soil. *FEMS Microbiology ecology*, 45 : 13-21.
- Ploetz R.C. & Pegg K.G. (2000). *Fusarium* wilt. In: *Diseases of Banana, Abacá and Enset*. Edition CABI, Wallingford (England) : 143-159.
- Ploetz R.C. (2000). Panama disease: a classic and destructive disease of banana. *Plant Health Progress*, 10 : 1-7.
- Ploetz R.C., Thomas J.E. & Slabaugh W.R. (2003). Diseases of banana and plantain, In: *Ploetz R.C., eds. Diseases of Tropical Fruits Crops*. Edition CABI, Cambridge (England) : 73-134.
- Ploetz R.C., Zentmyer G.A., Nishijima W.T., Rohrbach K.G. & Howard D. (1994). Compendium of tropical fruit diseases. *American Phytopathological Society*, 185 : 326-336.
- Raemaekers H. R. (2001). Agriculture en Afrique Tropicale. In : *Rues des petites cornes*. Edition DDCI, Bruxelles (Belgique) : 611-636.
- Ramada M.H.S., Lopes F.A.C. & Ulhoa C.J. (2019). *Trichoderma* : metabólitos secundários. *Proteomics*, 5 (3) : 202-221.
- Ranoarisoa M. (2018). Rôle des interactions bactéries-nématodes bactérivores sur la disponibilité du N et P au sein de la rhizosphère du riz sur sol ferrallitique à Madagascar : mécanismes et facteurs de contrôle. Thèse de Doctorat, UFR des Sciences Agronomiques, Université d'Antananarivo (Madagascar), 197 p.

- Ridout M. & Newcombe G. (2016). Disease suppression in winter wheat from novel symbiosis with forest fungi. *Fungal Ecology*, 20 : 40-48.
- Rodde A. (2010). Effets de *Radopholus similis*, nématodes parasites des racines, sur le fonctionnement racinaire du bananier. Mémoire de cycle Ingénieur, UFR Agronomie, Université Paris-Saclay (France), 50 p.
- Ropars J., Cruaud C., Lacoste S. & Dupont J. (2012). A taxonomic and ecological overview of cheese fungi. *International Journal of Food Microbiology*, 155 (3) : 199-210.
- Rørvik L.M., Aase B., Alvestad T. & Caugant D.A. (2003). Molecular epidemiological survey of *Listeria monocytogenes* in broilers and poultry products. *Journal of Applied Microbiology*, 94 (4): 633-640.
- Saadaoui M.M.H. (2021). Principales phytopathologies d'origines bactériennes et moyens de lutte. Thèse de Doctorat, UFR des Sciences Agronomiques, Université Ferhat Abbas Sétif 1, (Algérie) 205 p.
- Samson R.A., Peterson S.W., Frisvad J.C. & Varga J. (2011). New species in *Aspergillus* section Terrei. *Studies in Mycology*, 69 (1) : 39-55.
- Sangaré S.K., Bilgo A., Sanson A., Dabiré P., Hien V. & Duponnois R. (2009). Fertilité des sols et gestion du potentiel infectieux mycorhizienne. In : *champignons symbiotiques contre la desertification (écosystèmes méditerranéens, tropicaux et insulaires)*. Edition IRD, Bruxelles (Belgique) : 95-123.
- Santos C., Fraga M.E., Kozakiewicz Z. & Lima N. (2010). A Fourier transform infrared as a powerful technique for the identification and characterization of filamentous fungi and yeasts. *Research in Microbiology*, 161 : 168-175.
- Sarah J.L. (1990). Les viroses des bananiers, la mosaïque en plages des bananiers / Virus diseases in banana, banana mosaic. Thèse de Doctorat, UFR des Sciences Biologiques et Agronomiques, Université de Leuven (Belgique), 140 p.
- Sarasin G. (2011). Biotechnologie des symbioses racinaires en restauration écologique des écosystèmes dégradés à Madagascar. Mémoire de Master, UFR des Sciences de l'agriculture et de l'alimentation, Université Laval (Canada) 85 p.

- Schoofs H. (1997). Bottlenecks in the generation and maintenance of morphogenic banana cell suspensions and plant regeneration via somatic embryogenesis therefrom. *Info Musa*, 8 : 2-5.
- Selami N. (2015). Etude des associations symbiotiques de *Retama monosperma* : approches morphologique, anatomique et ultrastructurale, caractérisation moléculaire des isolats. Thèse de Doctorat, UFR de la Biotechnologie Végétale, University of Sciences and Technology in Oran (Algérie), 150 p.
- Sellami I.B.K. (2022). Etude de l'effet antagoniste des *Trichoderma* spp. en traitements individuels et associés à l'égard de *Fusarium oxysporum* f. sp. ciceris (Padwick), agent du flétrissement vasculaire du pois chiche. Mémoire de Master, UFR des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Mohamed El Bachir (Algérie), 37 p.
- Seydou T., Georges A.L.N.O.D., Brahima C., Martial K.F., Léonard O.S., Siaka T. & Daouda K. (2015). Effet de l'association de différents cultivars de bananiers (*Musa* spp.) tolérants sur l'incidence de la cercosporiose noire chez le cultivar sensible "orishelle" en Côte d'Ivoire. *European Scientific Journal*, 11 (24) : 70-94.
- Sharrock S. & Lusty C. (2000). Nutritive value of banana. Rapport annuel d'étude de l'INIBAP en 1999, Montpellier (France), 4 p.
- Silva I.D.O., Bessa L.A., Reis M.N.O., Augusto D.S.S., Roweder C., Souchie E.L. & Vitorino L.C. (2024). Endophytic Fungi Inoculation Reduces Ramulosis Severity in *Gossypium hirsutum* Plants. *Microorganisms*, 12 (6): 1124-1127.
- Simpson A.G., Adl S.M., Farmer M.A., Andersen R.A., Anderson O.R. & Barta J.R. (2005). The new higher-level classification of eukaryotes with emphasis on the taxonomy of protists. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 52 (5) : 399-451.
- Singh I. (2018). Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) and their various mechanisms for plant growth enhancement in stressful conditions. *European Journal of Biological Research*, 8 : 191-213.
- Skiredj A., Walali D.M. & Hassan E.T. (2005). La culture sous serre au Maroc. Rapport annuel ENPARD, Montpellier (France), 150 p.
- Soil S.S. (1998). Keys to Soil Taxonomy. 8th Edition, USDA, NRCS. *International Journal of Geosciences*, 1 (3) : 7-15.

- Soufiane B. (1999). Isolement à partir de la rhizosphère des conifères de bactéries et d'actinomycètes antagonistes aux champignons phytopathogènes. Thèse de Doctorat, UFR des Sciences de l'agriculture et de l'alimentation, Université Laval (Canada) 275 p.
- Souza H.N.D., De-Goede R.G.M., Brussaard L., Cardoso I.M., Duarte E.M.G., Fernandes R.B.A., Gomes L.C. & Pulleman M.M. (2012). Protective shade, tree diversity and soil properties in coffee agroforestry systems in the Atlantic Rainforest biome. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 146 : 179-196.
- Suffys S., Richard G., Burgeon C., Werrie P.Y., Haubruge E., Fauconnier M.L. & Goffin D. (2023). Utilisation de la technique d'extraction sorptive sur barreau magnétique - chromatographie en phase gazeuse - spectroscopie de masse pour étudier la production de composés aromatiques au cours de la fermentation du kombucha. Fiche technique sur les techniques d'extraction en phase gazeuse, Paris (France), 17 p.
- Swennen R. & Vuylsteke D. (2001). Bananier. In: *Raemarkers, H.R (ed) Agriculture en Afrique Tropicale*. Edition DGCI, Bruxelles (Belgique) : 611-636.
- Tabarant P. (2011). Effets d'apport de matières organiques sur le contrôle biologique des nématodes parasites du bananier en Guadeloupe. Mémoire de cycle Ingénieur, UFR Agronomie, AgroParisTech (France), 50 p.
- Tahar A.I. & Zeradna N.E. (2022). Test de l'Activité antifongique d'huile essentielle commercialisée. Mémoire de Master, UFR des Sciences et de la Technologie, Université de Tissemsilt (Algérie), 55 p.
- Tang W., Kuang J. & Qiang S. (2013). Biological control of the invasive alien weed *Solidago canadensis*: combining an indigenous fungal isolate of *Sclerotium rolfsii* SC64 with mechanical control. *Biocontrol Science and Technology*, 23 (10) : 1123-1136.
- Temple L. & Kwa M. (2019). La filière de la banane plantain : du marché aux usages alimentaires. Rapport d'étude des Presses Agronomiques de Gembloux (Belgique), 25 p.

- Teycheney P.Y., Lockhart B.E.L., Acina I. & Candresse T. (2007). Detection of Banana mild manioc virus and Banana virus x by polyvalent degenerated olizonucleotide PT-PCP (PDO-RP-PCP). *Journal of biological Methods*, 142 (1-2) : 41-49.
- Thiémélé D., Traoré S., Aby N., Gnonhouri P., Yao N., Kobenan K., Konan E., Adiko A. & Zakra N. (2017). Diversité et sélection participative de variétés locales productives de banane plantain de Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences*, 114 : 11324-11335.
- Tivoli B., Corbière R. & Lemarchand E. (1990). Relation entre le pH des sols et leur niveau de réceptivité à *Fusarium solani* var *coeruleum* et *Fusarium roseum* var *sambucinum* agents de la pourriture sèche des tubercules de pomme de terre. *Agronomie*, 10 (1) : 63-68.
- Toussaint R. (2010). Evaluation de la fixation symbiotique de l'azote de différentes légumineuses en interaction avec la disponibilité en azote minéral du sol. Mémoire de Master, UFR Sciences et Technologies, Université des Antilles et de la Guyane (France) 40 p.
- Traore S., Kobenan K., Kouassi S. & Gnonhouri G. P. (2009). Systèmes de culture du bananier plantain et méthodes de lutte contre les parasites et ravageurs en milieu paysan en Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences*, 19 : 1094-1101.
- Traore S., Kouadio D.L.M., Essis B.S. & Kobenan K. (2021). Pathogénicité *in vivo* en inoculations artificielles d'isolats de *Mycosphaerella* spp. des différentes zones de production de bananiers de la Cote d'ivoire. *Agronomie Africaine*, 33 (3) : 331-341.
- Trejo H.M. (1992). Physiologie de croissance de souches de *Claviceps* : Production d'alcaloïdes par fermentation en milieu solide. Thèse de Doctorat, UFR des Sciences Biologiques et Agronomiques, Université de Provence Aix-Marseille 1 (France), 164 p.
- Try S. (2018). Production d'arômes par fermentation en milieu solide. Thèse de Doctorat, UFR Environnements-Santé, Université Bourgogne Franche-Comté (France), 130 p.
- Valenzuela-González F., Casillas-Hernández R., Villalpando E. & Vargas-Albores F. (2015). The 16S rRNA gene in the study of marine microbial communities. *Ciencias Marinas*, 41 (4) : 297-313.

- Van-Der-Heijden M.G. & Hartmann M. (2016). Networking in the plant microbiome. *PLoS biology*, 14 (2) : 1369-1378.
- Vawa O.S.T., Gnonhouiri G.P., Adiko A., Zakraoui N. & Otchoumou A. (2015). La replantation annuelle de la culture de bananier plantain : une stratégie de gestion des nématodes endoparasites *Radopholus similis* et *Pratylenchus coffeae* en Côte d’Ivoire. *Journal of Applied Biosciences*, 92 : 8659-8666.
- Verscheure M., Lognay G. & Marlier M. (2002). Revue bibliographique : les méthodes chimiques d’identification et de classification des champignons. *Biotechnology, Agronomy and Society Environment*, 6 (3) : 131–142.
- Vincent G. (2007). Méthodes d’échantillonnage pour l’estimation paysagère : comment mesurer les dégâts d’une tempête. *L’espace géographique*, 36 : 237- 250.
- Walkley A. & Black I.A. (1934). An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, 37 (1) : 29-38.
- Walton N.J. & Brown D.E. (1999). Chemical from Plants: Perspectives on plant secondary products. *World scientific*, 43 : 1-14.
- Warcup J.H. (1950). The soil plate method for isolation of fungi from soil. *Nature*, 166 (4211) : 117-118.
- Weber E. & Jakobs G. (2005). Biological flora of central Europe: *Solidago gigantea* Aiton. *Flora-morphology, distribution, functional ecology of plants*, 200(2) : 109-118.
- Williams R. S. & Avakian M. A. (2015). Colonization of *Solidago altissima* by the Specialist Aphid *Uroleucon nigrotuberculatum*: Effects of Genetic Identity and Leaf Chemistry. *Journal of Chemical Ecology*, 41 : 129-138.
- Wright J.L.C., Boyd R.K., Freitas A.D., Falk M., Foxall R.A., Jamieson W.D. & Dewar D. (1989). Identification of domoic acid, a neuroexcitatory amino acid, in toxic mussels from eastern Prince Edward Island. *Canadian Journal of Chemistry*, 67 (3) : 481-490.
- Yang B.F., Du L.S. & Li J.M. (2015). Effects of *Cuscuta australis* parasitism on the growth, reproduction and defense of *Solidago canadensis*. *Journal of Applied Ecology*, 26 (11) : 3309-3314.

- Zain M.E., Awaad A.S., Al-Othman M.R., Alafeefy A.M. & El-Meligy R.M. (2014). Biological activity of fungal secondary metabolites, *International Journal of Chemical and Applied Biological Sciences*, 1 (1) : 14-22.
- Zamora M.C., Chirife J. & Roldán D. (2006). On the nature of the relationship between water activity and moisture in honey. *Food control*, 17 : 642-647.
- Zerroug A. (2018). Métabolites secondaires bioactifs des champignons endophytes isolés de *Retama raetam* (Forssk). Mémoire de Master, UFR des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Ferhat Abbas-Sétif (Algérie), 71 p.
- Zerroug A. (2021). Champignons endophytes des plantes médicinales de la région de Sétif : isolement, Identification et activités biologiques. Thèse de Doctorat, UFR des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Ferhat Abbas-Sétif (Algérie), 171 p.
- Zine I. & Talha H. (2020). Contribution à l'étude des ravageurs du maïs cultivé sous pivot dans la région de Ouargla. Mémoire de Master, UFR des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Kasdi Merbah-Ouargla (Algérie), 66 p.
- Znaïdi A. (2002). Etude et évaluation du compostage de différents types de matières organiques et des effets des jus de composts biologiques sur les maladies des plantes. Mémoire de Master, UFR des Sciences Agronomiques, Mediterranean Agronomic Institute of Bari (C.I.H.E.A.M) (France), 85 p.

# ANNEXES

**Annex I : Fiche d'enquête****I. PROPRIETAIRE DE LA BANANERAIE****1- Nom et Prénom**

Nom.....

Prénom.....

**2- Nationalité**☐ Ivoirienne☐ Autres,

A préciser.....

**3- Sexe**☐ Masculin☐ Féminin**5- Niveau d'étude**☐ Primaire☐ Secondaire☐ Supérieur☐ Aucun**6- Age**☐ Moins de 25 ans☐ 25 à 35 ans☐ Plus de 35 ans**7- Profession**☐ Fonctionnaire☐ Paysan☐ Commerçant☐ Autre, à préciser.....**II- BANANERAIE ET OBJECTIFS DE LA PRODUCTION**

8- Votre bananeraie est-elle associée à d'autres formes de cultures ?

☐ Oui☐ Non

Si oui, à préciser.....

9- A combien de kilomètre est située la plantation de votre domicile ?

.....

10- Combien d'hectares compte votre bananeraie ?

.....

11- Quel était le dernier rendement (production) de votre bananeraie ?

.....

12- Votre objectif quant au rendement de la bananeraie est-il atteint ?

☐ Oui☐ Non

Si non, pourquoi ?.....

13- Age de la plantation

.....

14- Etat des différents plants et feuilles des bananiers

.....

.....

15- Existe-t-il une autre bananeraie près de votre plantation ?

☐ Oui

☐ Non

Si oui, a quelle distance ?.....

16- A quelles fins produisez ?

☐ A but lucratif

☐ Pour se nourrir

☐ Autres,

À préciser.....

17- Combien de plantation disposez-vous ?

.....

### **III-EQUIPEMENTS ET RESSOURCES HUMAINES**

18- Les outils d'entretien de votre plantation vous appartiennent-ils?

☐ Oui

☐ Non

19- Avez-vous une main d'œuvre ?

☐ Oui

☐ Non

20- Si oui, quelle est la composition de cette main d'œuvre ?

☐ Hommes et femmes

☐ Femmes

☐ Hommes

21- Comment engagez-vous cette main d'œuvre ?

☐ Sous contrat

Journalier ☐

☐ Votre famille

☐ Autres,

À préciser.....

### **IV-PLANTING ET ENTRETIEN DE LA BANANERAIE**

22- L'itinéraire technique de la culture est-elle respectée?

☐ Oui

☐ Non

23- Comment avez-vous acquis les rejets de bananiers de votre plantation ?

☐ Avec un voisin

☐ Sur le marché

☐ Autres,

À préciser .....

24- Quels type de rejet avez-vous utilisez pour la mise en place de votre plantation ?

☐ Plants sélectionnés

☐ Rejet issu d'une ancienne plantation

☐ Autres,

A préciser.....

25- Quelle méthode de lutte utilisez-vous contre les mauvaises herbes ?

☐ Chimique

☐ Manuel

☐ Autres,

À préciser.....

26- Le même matériel d'entretien est-il utilisé pour l'ensemble de vos plantations?

☐ Oui

☐ Non

27- Combien de fois faites-vous l'entretien de votre bananeraie par an ?

.....

28- quelles est votre méthode de luttres contre les maladies et ravageurs ?

☐ Chimique

☐ Intégrée

☐ Autres,

À préciser.....

## V-CONTRAINTES

29- Quelles sont les maladies auxquelles votre plantation est confrontée ?

☐ Biotique

☐ Abiotique

30- Quels sont les dégâts causés par ces maladies à votre plantation ?

☐ Pourritures des fruits

☐ Dessèchement des feuilles

Autres à préciser.....

31- Existe-t-il des ravageurs de bananiers dans votre bananeraie ?

☐ Oui

☐ Non

Si oui lesquels? À préciser.....

32- Quels sont les dégâts causés par ces ravageurs ?

☐ Destruction des organes aériens

☐ Destruction des organes souterrains

☐ Autres,

À préciser.....

33- Le relief de la plantation

☐ Plat

☐ moyennement pentu

☐ Autres,

À préciser.....

Annexe II : Matériel technique



a. Centrifugeuse



b. VOTEX



c. Balance



d. Microscope



e. Etuve



f. Autoclave



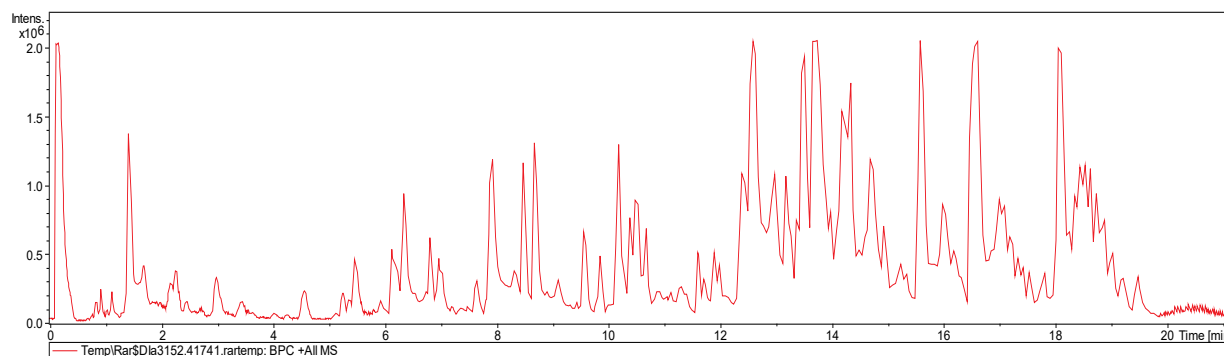
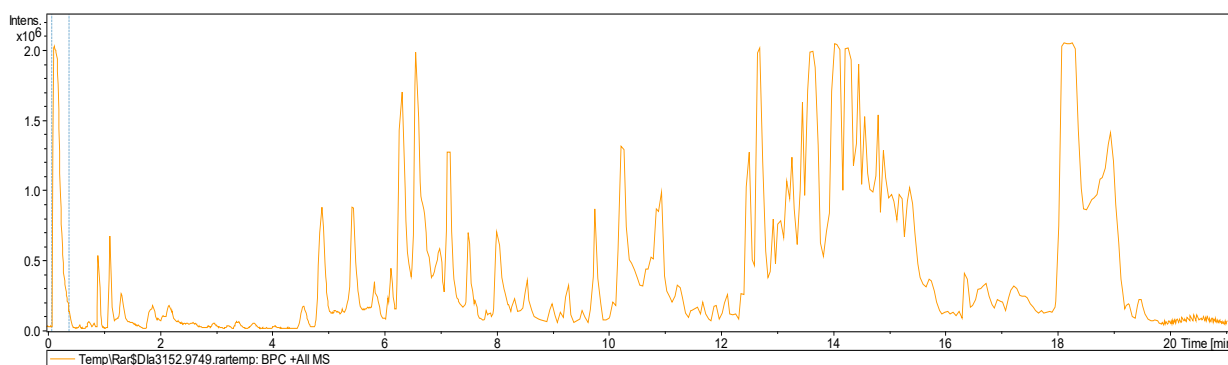
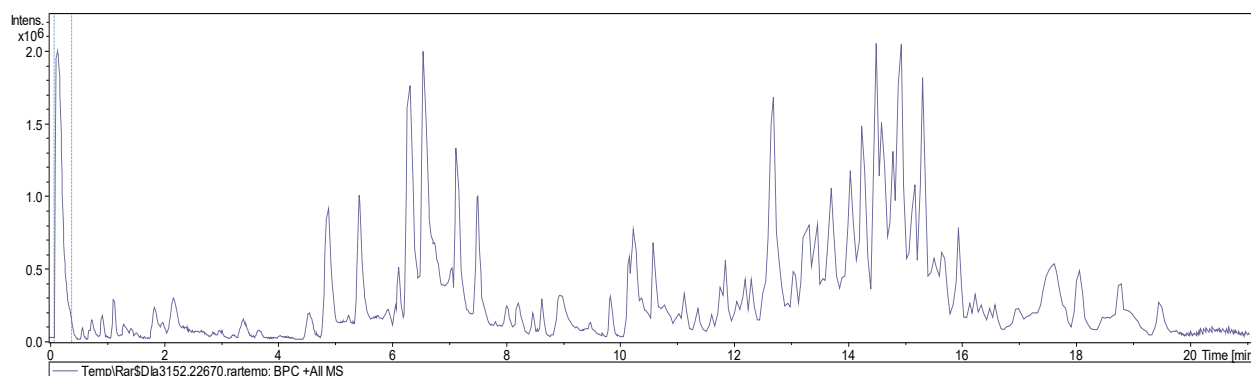
g. Visualiseur de Gel

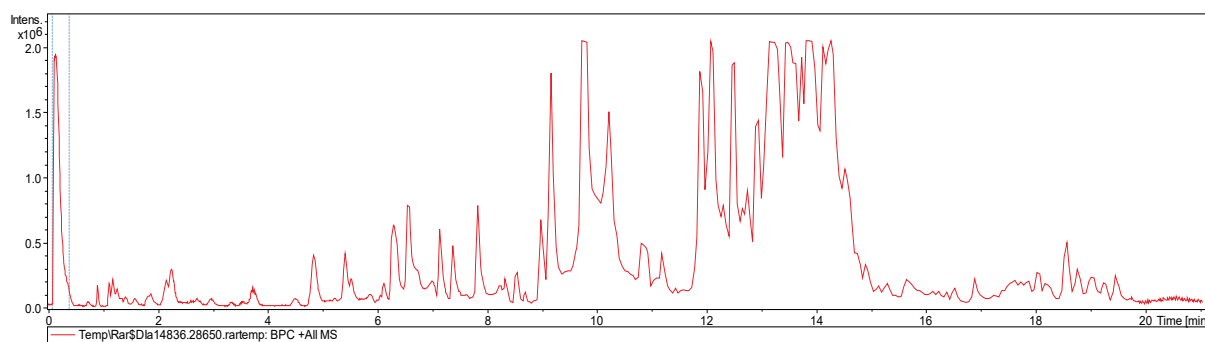


h. Dispositif a électrophorèse

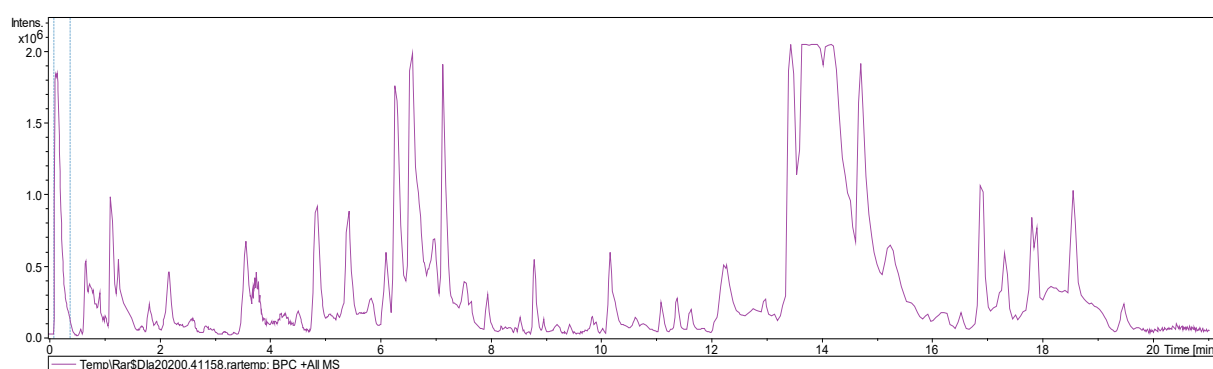


i. Thermocycleur

**Annexe III : Chromatogrammes du profil métabolique des champignons antagonistes****a. *Hamigera terricola* (A11E)****b. *Trichoderma longibrachiatum* (A30)****c. *Trichoderma ghanense* (A12E)**



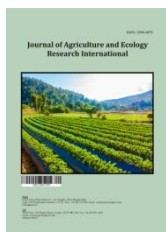
d. *Trichoderma reesei* (A21)



d. *Neurospora dictyophora*

# PUBLICATIONS

# PUBLICATION I



# Typology of Plantain Cultivation in a Context of Climate Change in the Agroecological Zone of Haut-Sassandra, Central-West, Côte d'Ivoire

Ousmane Fofana <sup>a,b\*</sup>, Kouassi Clément Kouassi <sup>a,b</sup>,  
Bi Rosin Don Rodrigue Voko <sup>a,b</sup> and Kra Athanase Kouassi <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Laboratory for Improvement of Agricultural Production, Unit for Training and Research in Agroforestry, BP 150 Daloa, Université Jean Lorougnon Guédé, Côte d'Ivoire.

<sup>b</sup> Laboratory of Agrovalorization, Unit for Training and Research in Agroforestry, BP 150 Daloa, Université Jean Lorougnon Guédé, Côte d'Ivoire.

## **Authors' contributions**

*This work was carried out in collaboration among all authors. All authors read and approved the final manuscript.*

## **Article Information**

DOI: 10.9734/JAERI/2024/v25i3595

## **Open Peer Review History:**

This journal follows the Advanced Open Peer Review policy. Identity of the Reviewers, Editor(s) and additional Reviewers, peer review comments, different versions of the manuscript, comments of the editors, etc are available here: <https://www.sdiarticle5.com/review-history/115104>

**Original Research Article**

**Received: 07/02/2024**

**Accepted: 11/04/2024**

**Published: 15/04/2024**

## **ABSTRACT**

The Haut-Sassandra region (Côte d'Ivoire), experiencing climate change with its many consequences, continues to produce bananas even if the level has fallen in recent years. This work was carried out to understand the adaptation strategies of plantain farmers facing the consequences of climate change. The methodological approach consisted of listing banana plantations of more than one hectare in Haut-Sassandra and carrying out a survey on plantain cultivation practices observed in this agroecological zone. The survey carried out made it possible to list 34 banana plantations with areas of between 1.5 and 5 hectares. For the establishment of banana plantations, slash-and-burn crops are the most favored (100%). The most used crop type is the crop association (85%) (cocoa (65%), coffee (15%) and food crops (5%)). Only 15% of banana

\*Corresponding author: E-mail: ouf1998@gmail.com;

plantations were monoculture. The fight against the wind is achieved by hedges made up of plots of rubber and teak surrounding the banana plantations. Symptoms of biotic and abiotic diseases were observed in all the banana plantations investigated. To maintain sustainability and better banana production, Haut-Sassandra planters combine several agroecological practices.

**Keywords:** *Climate change; cultural practices; adaptation.*

## 1. INTRODUCTION

In Côte d'Ivoire, the plantain is a very important crop for food and the economy. It essentially contributes to food security, job creation, and income diversification in rural and urban areas [1]. The plantain sector also contributes between 5 and 8 % of the country's agricultural GDP and provides around 22,000 jobs [2,3]. In Côte d'Ivoire, banana trees are generally grown in forest areas. These are humid climate plants, appreciating high humidity and good sunshine, but fearing winds and sudden temperature variations [4]. Temperature and radiation are the essential factors influencing plant growth. They are involved in metabolism through the mechanism of transpiration and photosynthesis. The banana tree tolerates strong insolation if the water supply is sufficient [5]. However, the production conditions for this crop of interest are made increasingly difficult by climate change [6]. In tropical Africa and specifically in Côte d'Ivoire, this phenomenon is at the origin of unusual droughts materialized by a scarcity of rain. This water scarcity is caused by a change in the precipitation regime and a reduction in annual rainfall amounts [7,8]. From an annual height of 1455.45 mm in 1983, the rainfall in the Haut-Sassandra region increased to 1063.46 mm of water in 2017 (data provided by SODEXAM: airport operating and development company, aeronautics and meteorology in Côte d'Ivoire). These rainfall anomalies have a negative impact on plantain production which is sensitive to low water levels [9]. The Haut-Sassandra region, once a major producer, continues to supply bananas even if the level of production has declined over the years. This work is carried out with the objective of describing the cultural models making it possible to support plantain production and to understand the adaptation strategies of plantain farmers in the agroecological zone of Haut-Sassandra facing the effects of climate change.

## 2. MATERIALS AND METHODS

### 2.1 Exploratory Mission of the Study Area

Data collection took place in four departments of the Haut-Sassandra region (Côte d'Ivoire). It

began with an exploratory mission which was carried out from May to July 2022. This mission was marked by a census of banana plantations of more than one hectare in the Haut-Sassandra region. For its implementation, contacts were established with producers with banana plantations of more than one hectare.

### 2.2 Conducting the Survey

A survey was carried out during the month of July 2022 in all the identified banana plantations. Its objective was to identify the plantain cultivation practices observed in the agroecological zone of Haut-Sassandra (Côte d'Ivoire). For its realization, interviews and direct observations in banana plantations were carried out. Each banana plantation manager was submitted to a questionnaire relating generally to the identification of farms, the different varieties of banana trees cultivated and the cultivation system. Direct observations focused on the morphological aspect of banana trees. This morphological aspect concerns the state of the different plants and banana leaves, the state of grass cover of banana plantations and the agroecological practices observed by producers in the plantations.

### 2.3 Data Analysis

The data collected during the survey was entered using the Excel 2013 spreadsheet and analyzed by the sphinx lexica software.

## 3. RESULTS

### 3.1 Distribution of Banana Plantations of More than one Hectare in the Haut-Sassandra Region

The census of banana plantations carried out in the Haut-Sassandra region allowed to identify 34 plantations of more than one hectare including thirteen (13) in the department of Daloa, four (4) in the department of Vavoua, ten (10) in the department of Zoukougbeu and seven (7) in the department of Issia. The majority of these banana plantations have been listed in the departments of Daloa, Zoukougbeu and Issia. However, in the department of Vavoua very few

banana plantations met this selection criterion (Table 1).

### 3.2 Cultural Aspects of the Plantain in Haut-Sassandra

#### 3.2.1 Sociological profiles of plantain producers in Haut-Sassandra

Plantain cultivation in Haut-Sassandra was mainly practiced by Ivorians. Most of the planters were men over 18 years old. Only 35% of plantain producers have never been to school. More than 55% of farmers have 2 to 4 plantations and use the same maintenance equipment for all of their banana plantations. All farmers (100%) practiced plantain cultivation both for family food and for profit (Table 2).

#### 3.2.2 Cultural practices observed in banana plantations

Plantain cultivation in Haut-Sassandra was dominated by the cultural association (85%). Banana was grown in association with cocoa in 65% of cases, coffee in 15% and food crops in 5% (Fig. 1). For the establishment of plantations, slash-and-burn crops were favored by all farmers. The origin and quality of the seed (rejects) were not controlled. In fact, around 94% of rejects were acquired from a neighbor and 6% purchased on the market. These rejects (97.1 %) came from an old plantation. According to producers, 32.4% of banana plantations showed good production over the last two years,

including 20.6% with satisfactory production and 11.8 % with very satisfactory production. The majority of banana plantations, 88.2%, had a duration varying from 2 to 5 years and only 11.8% had been in existence for more than 5 years.

The survey carried out revealed also that 94.1% of farmers in the region maintain their plantation by weeding and by spraying of fields from 2 to 4 times a year. The majority of banana plantation managers i.e. 91.2% used herbicides to combat weeds and only 8.8% used the manual method (daba, machete). As for the fight against diseases and pests, 85.3% of farmers practiced the natural method (traditional) and 14.7% used chemical products. The survey also indicated that only 14.7% of farmers fertilized their fields. This fertilization was done through organic fertilizers (mixture of bovine dung with wood chips, chicken droppings and compost from banana peel). The reliefs were flat in 58.8% of banana plantations and moderately sloping in 41.2% (Table 3).

#### 3.2.3 Impact of the cropping system on plantain production

Around 72% of banana plantations in association showed good production over the last two years. The plants of these farms were robust with the mostly green foliage. As for monoculture banana plantations, 80% presented poor production. These plantations were characterized by puny plants with predominantly yellow leaf surfaces.

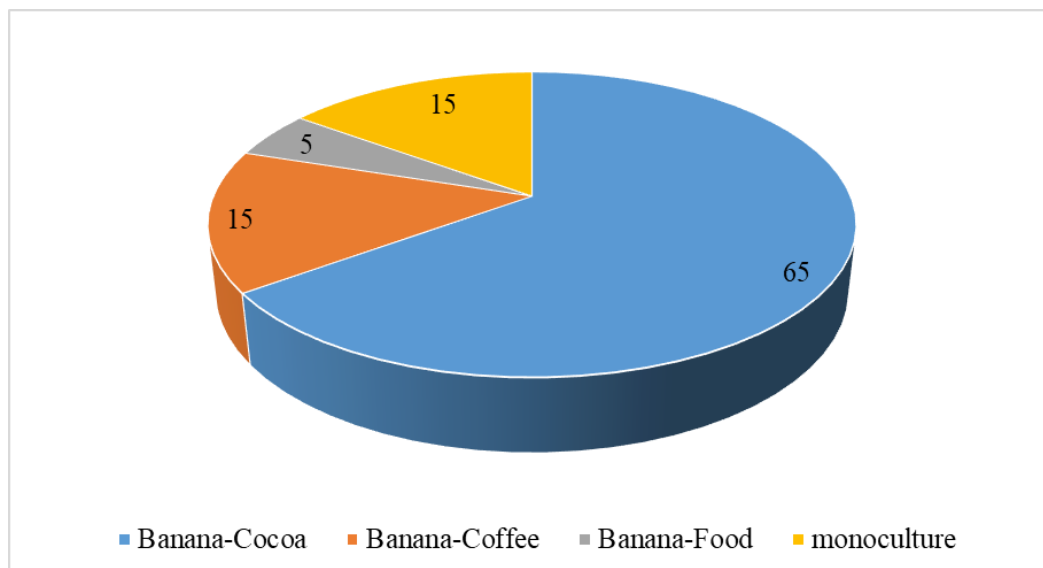


Fig. 1. Percentage of plantain farming systems in Haut-Sassandra

**Table 1. Lists of banana plantations in Haut-Sassandra**

| Departments                  | Daloa | Vavoua | Zoukougbeu | Issia |
|------------------------------|-------|--------|------------|-------|
| Number of banana plantations | 13    | 4      | 10         | 7     |

**Table 2. Profile of banana plantation managers**

| Producer profile                         |                       | Number of banana plantations | Frequency (%) |
|------------------------------------------|-----------------------|------------------------------|---------------|
| Nationality                              | Ivorian               | 30                           | 88,20         |
|                                          | others                | 4                            | 11,80         |
| Sex                                      | man                   | 30                           | 88,20         |
|                                          | woman                 | 4                            | 11,80         |
| Age (years)                              | under 18              | 0                            | 0,00          |
|                                          | from 18 to 45         | 24                           | 70,60         |
|                                          | over 45               | 10                           | 29,40         |
| Level of study                           | none                  | 12                           | 35,30         |
|                                          | primary               | 10                           | 29,40         |
|                                          | secondary             | 11                           | 32,40         |
|                                          | spper                 | 1                            | 2,90          |
| Type of activity                         | primary               | 27                           | 79,4          |
|                                          | secondary             | 7                            | 20,6          |
| Number of banana plantations per planter | less than 2           | 15                           | 44,1          |
|                                          | from 2 to 4           | 19                           | 55,9          |
| Purpose of production                    | for profit and family | 34                           | 100           |

**Table 3. Some characteristics of the banana plantations investigated**

| Settings                                 |                                               | Number of Banana Plantations | Frequency (%) |
|------------------------------------------|-----------------------------------------------|------------------------------|---------------|
| Slash-and-burn cultivation               |                                               | 34                           | 100           |
| Acquisition of rejects                   | with a neighbor                               | 32                           | 94,1          |
|                                          | on the market                                 | 2                            | 5,9           |
| Type of releases                         | selected plants                               | 1                            | 2,9           |
|                                          | from old plantation                           | 33                           | 97,1          |
| Estimated production                     | weak                                          | 12                           | 35,3          |
|                                          | unsatisfactory                                | 11                           | 32,3          |
|                                          | satisfying                                    | 7                            | 20,6          |
|                                          | high                                          | 4                            | 11,8          |
| Age of plantation (years)                | from 2 to 5                                   | 30                           | 88,2          |
|                                          | more than 5                                   | 4                            | 11,8          |
| Maintenance of the banana plantation     | less than 2 years                             | 2                            | 5,9           |
|                                          | from 2 to 4 years                             | 32                           | 94,1          |
|                                          | Use of the same equipment for all plantations | 34                           | 100           |
| Weed control methods                     | herbicides                                    | 31                           | 91,2          |
|                                          | daba, machete (manual)                        | 3                            | 8,8           |
| Methods for combating diseases and pests | chemical synthesis products                   | 5                            | 14,7          |
|                                          | biological control                            | 29                           | 85,3          |
| Use of fertilizers                       |                                               | 5                            | 14,7          |
| Type of fertilizers used                 | Chemical fertilizer                           | 0                            | 0,0           |
|                                          | organic fertilizer                            | 5                            | 14,7          |
|                                          | none                                          | 29                           | 85,3          |
| Relief of the plantation                 | flat                                          | 20                           | 58,8          |
|                                          | moderately sloping                            | 14                           | 41,2          |

**Table 4. Comparison between monoculture and crop association of plantain in Haut-Sassandra**

| Settings                              |             | Number of banana plantations                                                                  | Frequency (%) |
|---------------------------------------|-------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| Banana plantation yield               | association | 21 banana plantations (72.4 %) with satisfactory production.                                  |               |
|                                       | monoculture | 1 banana plantations (20 %) with satisfactory production.                                     |               |
| Morphological aspects of banana trees | association | 21 banana plantations (72.4 %) presenting robust plants with predominantly green leaves.      |               |
|                                       | monoculture | 4 banana plantations (80%) presenting stunted plants with predominantly yellow leaf surfaces. |               |

**Table 5. Some constraints linked to banana cultivation in the Haut-Sassandra region**

| Settings                             |                                               | Number of Banana Plantations | Frequency (%) |
|--------------------------------------|-----------------------------------------------|------------------------------|---------------|
| Attack of the plantation by diseases |                                               | 34                           | 100,0         |
| Damage caused by these diseases      | fruit rots                                    | 10                           | 29,4          |
|                                      | leaf drying, root rot and pseudostem shedding | 24                           | 70,6          |
| Disease symptoms                     | biotic                                        | 16                           | 47,1          |
|                                      | abiotic (drought, soil poverty)               | 18                           | 52,9          |

### 3.2.4 Constraints linked to plantain cultivation in Haut-Sassandra

Banana cultivation in the study area was subject to various constraints, namely the effects of biotic and abiotic diseases. Indeed, according to banana plantation managers, all the plantations investigated often showed symptoms of disease. These diseases caused fruit rot in 29.4% of banana plantations, leaf drying, root rot and pseudostem fall in 70.6%. Farmers attributed the cause of these diseases to drought, poor soil condition and animal attacks.

### 3.3 Agroecological Practices Observed in Banana Plantations

Only 5.9% of producers used hedges to combat violent winds. Live hedges were made up of either rubber plants (*Hevea brasiliensis*) or teak (*Tectona grandis*) (Table 6 and Fig. 2). Some ecological practices were observed in certain plantations, notably with the addition of manure in 2.9% of banana plantations and the use of cover plants in 5.9% of plantations. Cover crops consisted mainly of legumes such as soybean (*Glycine max*) and cowpea (*Vigna unguiculata*) (Table 6 and Fig. 2).



Rubber hedge



Cover plants in a banana plantation

**Fig. 2. Photograph of some agroforestry and ecological practices observed in banana plantations**

**Table 6. Some agroforestry and ecological practices observed in banana plantations**

| Settings                              | Number of banana plantations | Frequency (%) |
|---------------------------------------|------------------------------|---------------|
| Use of live hedges to combat the wind | 2                            | 5,9           |
| Manure input                          | 1                            | 2,9           |
| Use of cover plants                   | 2                            | 5,9           |

#### 4. DISCUSSION

This study was carried out to understand the adaptation strategies of plantain farmers in the Haut-Sassandra agroecological zone to the effects of climate change. In the Haut-Sassandra region, there were large plantations of more than one hectare distributed according to the departments while the average surface area of plantain plantations in Côte d'Ivoire is one hectare [10]. The Haut-Sassandra region is therefore one of the areas of high plantain production as indicated by [11] on the study of the plantain sector in Côte d'Ivoire. However, few plantations in the Vavoua department had more than one hectare. Indeed, the populations of this department were more interested in cashew cultivation; thus, making plantain cultivation a secondary crop [12]. This department located 54 km north of Haut-Sassandra is currently better suited to crops in the savannah zone which are more resistant to drought. The same observation was made by [13] on the cashew boom in Côte d'Ivoire.

In the Haut-Sassandra region, plantain cultivation is dominated by Ivorians. This could be linked to the fact that the majority of cultivated land is family property and bananas are part of the eating habits of these populations. Similar observations were highlighted by [10] on the plantain cultivation system in a peasant environment in the departments of Aboisso, Agboville, Bouaflé, Gagnoa and San-Pedro (Côte d'Ivoire). Most of the planters had an average level of education and were male. Indeed, women are more interested in market gardening and commerce in Haut-Sassandra [14]. The majority of planters were young because the establishment and maintenance of banana plantations requires weeding and digging, requiring a fair amount of physical strength. This work is therefore very difficult for women and the elderly [15,16]. Planters generally had 2 to 4 plantations and the harvests were intended for food and marketing [17,18].

The establishment of plantations was done by slash-and-burn crops. According to the planters,

this practice requires little work, the ash fertilizes the earth and the fire destroys pathogenic organisms and harmful insects. This observation had already been described by [19] on farmers' perceptions of agroforestry on the mountain slopes in Man (Côte d'Ivoire). However, according to [20], slash-and-burn cultivation leads to deforestation, a decline in soil fertility, an increase in erosion and a drying out of the climate. The varieties cultivated were traditional varieties generally from an old plantation. The method of acquiring suckers clearly showed that farmers were faced with the problem of planting material. In fact, more than 90% of releases were acquired from a neighbor. These results do not corroborate those of [10] which indicated that 80% of rejects were acquired on the market in the departments of Agboville and Aboisso. However, using suckers of different varieties could be a way to mitigate the effects of drought because all these varieties do not have the same sensitivity to lack of water. Some could be more resistant and provide satisfactory production even with low water levels. Almost all plantations were maintained 2 to 4 times a year. This could be the origin of the good production observed in 32.4% of banana plantations over the last two years. The majority of banana plantations (88.2%) were young (2 to 5 years old). This could partly explain the good production in certain plantations. However, in these banana plantations, the same maintenance equipment was used for all the plantations available to the same planter. This could lead to the transmission of phytopathogenic diseases from one plantation to another.

Banana plantation managers frequently used both chemicals and the manual method to control weeds [17]. Disease control was generally done using the empirical method, i.e. destroying the banana tree showing a wide range of disease symptoms, using the ash to control root-eating ants and laying beef dung on the fruits to prevent their destruction by pests. Generally, chemical synthesis products are rarely used against plantain diseases in Africa [21]. Producers justify it by lack of resources [22]. However, these empirical control methods are similar to biological methods. They are efficient and would be at the

origin of the sustainability of production. Also, approximately 15% of producers used organic fertilizer (mixture of bovine dung with wood chips, chicken droppings and banana peel compost) for fertilization as indicated by [23] on the sustainability of the plantain sector in Benin.

Examination of the characteristics of the banana plantations investigated indicated that the plantations were mainly installed on flat land, which limits erosion phenomena. Plantain cultivation in Haut-Sassandra was marked mainly by the cultural association. The same observations were made by [1] on the annual replanting of plantain crops in Côte d'Ivoire. These authors stipulated that the banana tree is generally grown in association with food crops, cash crops or fruit crops in the forest zone. Around 72% of banana association plantations showed good production over the last two years. The plants from these farms were robust with mostly green foliage. As for monoculture banana plantations, 80% showed poor production. These plantations were characterized by stunted plants with predominantly yellow leaf surfaces. The positive effects observed in most banana plantations in association would be linked to the fact that the plants associated with banana trees played a valuable shading role for banana trees by mitigating the effects of sunlight and excessive heat. These observations are consistent with those of [24] who indicated that in a crop association system some plants behave like shade trees for others. Indeed, according to these authors, shade trees regulate the microclimate, thus helping to reduce soil evapotranspiration, limit wind erosion and prevent extreme temperatures. This creates a more favorable environment for plants by allowing healthier growth and reducing water stress. The mitigation of thermal stress allows the plant to maintain its transpiration at an optimal level [25]. Some planters used cover crops to limit soil erosion and fight weeds. Indeed, these cover plants also play a valuable shading role in plantations and allow the increase in soil fertility by providing organic matter, fixing nitrogen, increasing biodiversity and reducing the risk of nitrogen leaching [26].

To combat violent winds, 5.9% of planters used living hedges. Live hedges were made up of either rubber or teak plants. Similar observations were made by [27] on peasant strategies and practices for sustainable management of soil fertility in the Korhogo department in the north of

Côte d'Ivoire. Indeed, according to these authors, farmers in the Korhogo department used live hedges based on dead hedges, mixed hedges, *Anacardium occidentale* hedges or *Gmelina arborea* hedges to combat violent winds and leaching phenomena.

The banana cultivation in the study area was subject to various constraints namely the pressures of biotic and abiotic diseases. Similar results were obtained by [28] on the innovation platforms of the plantain sector in Côte d'Ivoire. Indeed, all plantations investigated often presented symptoms of illness. These symptoms were manifested by fruit rot, leaf yellowing with the presence of black spots, leaf drying, root rot and fall of the pseudostem. About 53% of planters attributed the effects of these diseases to drought and poor soil condition. However, this could also be linked to the effects of phytopathogens [29]. Indeed, the yellow coloring of the leaves and the stunted banana trees observed in certain banana plantations could be linked to the presence of certain fungal and bacteria pathogens in these farms [29]. The black leaf spots observed in several plantations investigated would be due to the presence of micromycetes of the genus *Mycosphaerella* responsible for foliar diseases [30].

## 5. CONCLUSION

The present study made it possible to identify the cultural models of plantain implemented by the producers of Haut-Sassandra in the face of the phenomenon of climatic change. The results indicate that to mitigate the effects of climate change on plantain production, planters generally practice crop association. This practice made it possible to reduce soil evapotranspiration, to limit wind erosion and to prevent extreme temperatures. The majority of planters use suckers of different varieties and frequently regenerate banana plantations to limit the effects of drought on production. Disease control and fertilization are mainly through biological control methods. Cover plants are also used in certain plantations for fertilization, to limit soil erosion and to reduce evapotranspiration. In addition, banana plantations are installed generally on flat land to limit soil leaching. Live hedges were used by a minority of farmers to fight against violent winds. All these practices observed constitute agroecological practices promoting sustainability and good production of banana plantations.

## COMPETING INTERESTS

Authors have declared that no competing interests exist.

## REFERENCES

1. Vawa OST, Gnonhouri GP, Adiko A, Zakraoui N, Otchoumou A. Annual replanting of plantain crops: a management strategy for endoparasitic nematodes *Rodopholus similis* and *Pratylenchus coffeae* in Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences*. 2015;92: 8659-8666.
2. Sangaré SK, Bilgo A, Sanson A, Dabiré P, Hien V, Duponnois R. Fertility of soils and management of infectious potential mycorrhizal disease. In: symbiotic mushrooms against desertification (Mediterranean, tropical and island ecosystems) Edition IRD, Brussels. 2009; 95-123.
3. FIRCA. Directory of technologies disseminated: root, tuber and plantain (RTP) in Côte d'Ivoire. Annual report. 2014;42.
4. Kouadio DO, Traore A, Sorho LL. Plantain cultivation is exposed to irregular rainfall in the Taabo sub-prefecture (in the center of Côte d'Ivoire). *The Journal of Social Sciences*. 2022;23:2073-9303
5. Lassoudière A. The banana tree and its cultivation, Quae, Versailles (France). 2007;383.
6. Caquet T. Innovative systems facing climate change, *Science & impact*. 2014; 26:697-705.
7. Affoué BY, Kouakou LK., Koffi EK, Bi-Tié AG, Amadou TG. Assessment of the potential impacts of climate change on the flows of the Lobo River, West-Central Côte d'Ivoire. *Afrique Science*. 2019;15(4):330–342.
8. Brou YT, N'Goran JAK, Bicot S, Servat E. Climate risk and agricultural production in Côte d'Ivoire: effect of rainfall variations on cocoa production. In: *Proceedings of the 14<sup>th</sup> international conference on cocoa research* (Accra, Ghana, October 18-23, 2003). 2003;259- 267.
9. Chanzy A, Martin G, Colbach N, Gosme M, Launay M, Loyce C, Novak S. Adaptation of crops and systems of cultivation to climate change and new uses, technical mission report from the National Institute of Agronomic Research, Paris (France). 2015;29.
10. Traore S, Kobenan K, Kouassi S, Gnonhouri GP. Banana cultivation systems plantain and methods of combating parasites and pests in farming environments in Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences*. 2009;19:1094-1101.
11. Audrey P. Study of the Plantain banana sector in Côte d'Ivoire. Report on the promotion and marketing of Plantain Banana and Cassava in Côte d'Ivoire / office of the French Committee for International Solidarity (CFSI), Reims (France). 2015;62.
12. N'guessan GK, Assi JK, Kra TK. Aging of the Coffee/Cocoa orchard and change in the plantation economy in the Vavoua department in Côte d'Ivoire. *International Journal of Humanities and Social Science Invention*. 2021;10(8):11-21
13. François R, Siaka K, Boniface B. The cashew boom in Côte d'Ivoire: ecological and social transition from cotton and cocoa-based systems. study report, Abidjan (Côte d'Ivoire). 2019;12.
14. Mathata MPO. Female Entrepreneurship and economic empowerment of women traders in Côte d'Ivoire: a historical approach. Research document on the observation of the economic Francophonie. 2020;13.
15. Guengant JP. African demography between convergences and divergences. *Africa faces its demographic challenges*. AFD-Ceped-Karthala. 2007;19:27-121.
16. Assri AA, Yoro GR, Deheuvels O, Kébé BI, Keli ZJ, Adiko A, Assa A. The agronomic characteristics of cocoa orchards (*Theobroma cocoa* L.) in Côte d'Ivoire. *Journal of Animal and Plant Sciences*. 2009;2(1):55-66.
17. Bakry F, Louis MR, Françoise C, Jean LN, Franc CB, Jean PH, Hugues TJG, Claire L, Pierre JL. Diploid ancestors of triploid export banana cultivars: molecular identification of 2n restitution gamete donors and n gamete donors. *Molecular Breeding CIRAD*. 2005;16:333-341.
18. Lassoudière A. The story of the banana tree, Quae, Versailles (France). 2010;351.
19. Alexandre N. What perceptions do farmers have for agroforestry on mountain slopes in Man (Ivory Coast)? Study report. 2017;3.
20. Ducourtieux O. Rice and trees: The ban on slash-and-burn agriculture, a political

- constant in Laos. Karthala Editions. 2009; 12:88-101.
21. Nkendah R, Akyeampong E. Socioeconomic data on the plantain sector in Central and West Africa. *InfoMusa*. 2003;12(1):8-12.
  22. Efanden C, Kwa M, Temple L, David O. Plantain production in the peri-urban area of Yaoundé: identification of constraints and impacts on the origin and quantification of market flows of the city. In *Fruits*. 2005;7(1):109-113.
  23. Hedegla ANAM. Analysis of production systems and training needs of producers for the sustainable development of the plantain sector in Benin. Master's thesis, UFR of Management Sciences, Higher School of Management and Technology of Benin. 2022;90.
  24. Souza HND, De-Goede RGM, Brussaard L, Cardoso IM, Duarte EMG, Fernandes RBA, Gomes LC, Pulleman MM. Protective shade, tree diversity and soil properties in coffee agroforestry systems in the Atlantic Rainforest biome. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 2012;146:179–196.
  25. Meven C. Effect of shading on microclimate, soil fertility and coffee production in Costa Rica. Master's thesis, UFR of Agronomic, Agri-Food, Horticultural and Landscape Sciences, University of Rennes 1 (France). 2015;34.
  26. Richard T. Evaluation of the symbiotic nitrogen fixation of different legumes in interaction with the availability of mineral nitrogen from the soil. Master's thesis, UFR of Sciences and Technology, University of the Antilles and Guyana (France). 2010;55.
  27. Kouamé AN, Konan EK, Konan AA, Albert YK. Farmer strategies and practices for sustainable management of soil fertility in the Korhogo department in the north of the Côte d'Ivoire. *Africa Science*. 2019;15(4):245-258.
  28. Kouakou EA, Ludovic T, Syndhia M, Alexandre A. Innovation platforms as a device for guiding the technological trajectories of agricultural sectors: case of the plantain sector in Côte d'Ivoire. Final report of CIRAD, Montpellier (France). 2016;18.
  29. Perez VL, Dita MA, De LPEM. Technical manual prevention and diagnosis of *Fusarium* wilt (Panama disease) of banana caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense tropical race 4 (TR4). Study report - FAO, Rome (Italy). 2014;74.
  30. Gasparotto L, Pereira J, Clério R, Urban AF, Hanada RE, Pereira CN. *Heliconia psittacorum*: hospedeira of *Mycosphaerella fijiensis*, causal agent of Sigatoka negra of Bananaira. 3th conference for *Fitopatologia Brasília* 2005, Brazil. 2005; 423-425.

© Copyright (2024): Author(s). The licensee is the journal publisher. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Peer-review history:

The peer review history for this paper can be accessed here:  
<https://www.sdiarticle5.com/review-history/115104>

# PUBLICATION II

## RESEARCH PAPER

# Evaluation of Biocontrol of *Mycosphaerella fijiensis* by five Species of Rhizosphere Fungi of Plantain

Ousmane Fofana<sup>1,2</sup> | Rosin Don Rodrigue Voko Bi<sup>1,2</sup> | Kouassi Clément Kouassi<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Laboratory for Improvement of Agricultural Production, Unit for Training and Research in Agroforestry, Université Jean Lorougnon Guédé, Daloa, Côte d'Ivoire | <sup>2</sup>Laboratory of Agrovalorization, Unit for Training and Research in Agroforestry, Université Jean Lorougnon Guédé, Daloa, Côte d'Ivoire | <sup>3</sup>Laboratory of Food Biotechnology and Microbiology, Department of Food Science and Technology, Nangui Abrogoua University, Abidjan, Côte d'Ivoire

**Correspondence:** Kouassi Clément Kouassi ([clemankoici@yahoo.fr](mailto:clemankoici@yahoo.fr))

**Received:** 6 December 2024 | **Revised:** 7 February 2025 | **Accepted:** 23 February 2025

**Keywords:** antagonist | antifungal | biocontrol | rhizosphere fungi

## ABSTRACT

This study assessed the efficacy of certain rhizosphere fungi isolated from banana plantations in the Haut-Sassandra region as biocontrol agents against *Mycosphaerella fijiensis*, responsible for banana black spot. It involved characterizing banana leaf and rhizosphere fungi and studying the antagonistic activity of rhizosphere fungi on *M. fijiensis*. Analyses identified isolates M9 and M10 as *M. fijiensis*. Five fungal species were isolated from the rhizosphere: *T. ghanense*, *T. longibrachiatum*, *T. reesei*, *Neurospora dictyophora* and *H. terricola*. In vitro tests revealed that these fungi inhibit the growth of *M. fijiensis*, using antagonistic mechanisms such as competition, antibiosis and mycoparasitism. The strongest antagonistic activity was observed with *N. dictyophora*. Moreover, the extracts derived from these antagonists showed high antifungal activity, with total inhibition of *M. fijiensis* from 2.5 mg/mL upwards. The minimum fungicidal concentration (MFC) for all extracts was 5 mg/mL, except for *T. ghanense* which showed an MFC of 10 mg/mL. These results suggest that the rhizospheric fungi studied are promising candidates for the development of *M. fijiensis* biocontrol strategies.

## 1 | Introduction

In Côte d'Ivoire, black cercosporiosis or black stripe disease, caused by the ascomycete fungus *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, has emerged as the main foliar pathology of bananas [1–3]. First detected in 1985 in the Aboisso region (south-east of Côte d'Ivoire), the disease is now present in all banana-growing areas of the country [3]. It attacks the leaves, causing leaf surface degradation and considerably reducing the plants' photosynthetic capacity. As a result, the disease slows down banana growth and causes bananas to ripen prematurely [4]. The economic consequences are much more serious, since losses can represent over

50% of the harvest [4, 5]. Traditional control methods, mainly based on the use of chemical fertilizers and fungicides, can sometimes improve the health of diseased banana plants. However, these methods have drawbacks such as the high cost of synthetic chemicals, negative environmental impacts and the possibility of developing resistance in pathogens [6, 7], not to mention negative impacts on human health [8]. Hence the need to explore sustainable alternatives for controlling this disease. Biocontrol is emerging as a promising solution for managing plant diseases in an ecological and sustainable way. This approach relies on the use of living organisms or natural substances to limit pathogen populations [9, 10]. The rhizosphere of

**Abbreviations:** A12E, A15, A29, I3, *Trichoderma ghanense*; A20, *Neurospora dictyophora*; A21, I4, *Trichoderma reesei*; A6, A11E, *Hamigera terricola*; A7E, A12, A30, *Trichoderma longibrachiatum*; C<sub>0</sub>, diameter of control colonies; C150, concentration that induces 50% inhibition; Cn, average diameter of colonies in the presence of antagonism; DMSO, dimethylsulfoxide; ITS, Internal Transcribed Spacers; I (%), percentage of mycelial growth inhibition; M9, M10, *Mycosphaerella fijiensis*; MFC, minimum fungicidal concentration; MIC, minimum inhibitory concentration; PCR, polymerase chain reaction; PDA, potato dextrose agar.

the banana plant abounds in a wide variety of fungi, whose interactions with banana differ from one species to another. While there are pathogenic species, there are also species whose activity is beneficial to banana [11]. Some rhizospheric fungi are capable of inhibiting pathogen development and can be used as biological control agents [9, 12, 13]. The general objective of this study is to determine the efficacy of certain rhizosphere fungi isolated from banana plantations in the Haut-Sassandra region (Côte d'Ivoire), as biocontrol agents against *M. fijiensis*.

## 2 | Materials and Methods

### 2.1 | Study Area

This study was carried out in two locations in Côte d'Ivoire: the department of Bonoua (Sud-Comoé region), with geographic coordinates 5°16'17" North and 3°35'40" West, and the Haut-Sassandra region, with geographic coordinates 7°00'00" North and 6°30'00" West. Samples of necrotic plantain leaves used to isolate *M. fijiensis* were collected from a plantain field (Figure 1) in Bonoua department, where cercosporiosis is endemic. The department of Bonoua covers an area of 43 km<sup>2</sup> and lies around 60 km east of Abidjan. The town enjoys a humid tropical climate with four distinct seasons, and has ferrallitic and hydromorphic soils [3].

The rhizospheric soil samples used to isolate biocontrol agents were taken from plantain fields in the Haut-Sassandra region (Figure 1), an area of high plantain production. This region, which represents 5.5% of the national territory (17,761 km<sup>2</sup>), also has a tropical climate with four distinct seasons and ferrallitic soils [14].

### 2.2 | Sample Collection

Sampling of necrotic plantain leaves took place during August 2022. Using a sterile cutter, five necrotic plantain leaves with typical symptoms of black cercosporiosis were harvested from plantain plants in a banana plantation. The leaves were immediately packed in a stomacher bag and transported to the laboratory for further analysis.

Sampling of plantain rhizospheric soil took also place during August 2022 at the end of the rainy season in sixteen (16) banana plantations in Haut-Sassandra. This operation was carried out using the point and plot survey method [15]. Three plots at least 50 m apart were defined in each banana plantation. Samples were taken within a 0.5 m radius of the base of each banana tree. The soil surface was cleared of debris using a hoe, and at a depth of 15–20 cm, 50 g of soil adhering to the roots of the plantain plants included in each defined plot was taken with an auger [16]. For each plot, 10 incremental samples were collected. One composite sample per plot was then produced by mixing and homogenizing all the incremental samples. A total of 48 rhizosphere soil samples, each weighing around 500 g, were collected, packaged in sterile bags and sent to the laboratory for further analysis.

## 2.3 | Isolation and Identification of *M. fijiensis*

### 2.3.1 | Isolation of *M. fijiensis* Strains

Around a flame, 1 mm<sup>2</sup> pieces of necrotic leaves were cut with a sterile cutter, and soaked in sterile distilled water for 20 min to moisten and clean both sides. Then, using sterile forceps, the leaf pieces were placed on Petri dishes containing preprepared 3% agar. The underside of the leaf faced upwards, with the upper side in contact with the agar. The plates were incubated at 30°C for 24 h. Transplantation of *M. fijiensis* ascospores was carried out by microscopic observation, carefully recovering the discharged ascospores one by one using a sterile needle. The ascospores discharged from the agar were then transferred individually to PDA medium and reincubated at 30°C. Four to 8 days after inoculation, fungal colonies from primary isolations were subcultured separately onto new PDA media. After 45 days, pure, individualized strains were obtained [17].

### 2.3.2 | Characterization of *M. fijiensis* Strains

Strain characterization was based on phenotypic observations and molecular analysis. Phenotypic characteristics, that is coloration, shape, mycelial appearance and growth rate of strains ( $V = \text{Mean diameter (mm)}/\text{Time (days)}$ ) on PDA medium were observed. Molecular characterization involved PCR amplification of the internal transcribed spacers (ITS) regions using universal primers ITS1 and ITS4, and of the 5.8 S ribosomal DNA gene using primers MF137 from *M. fijiensis* and R635 as the reverse primer [18, 19].

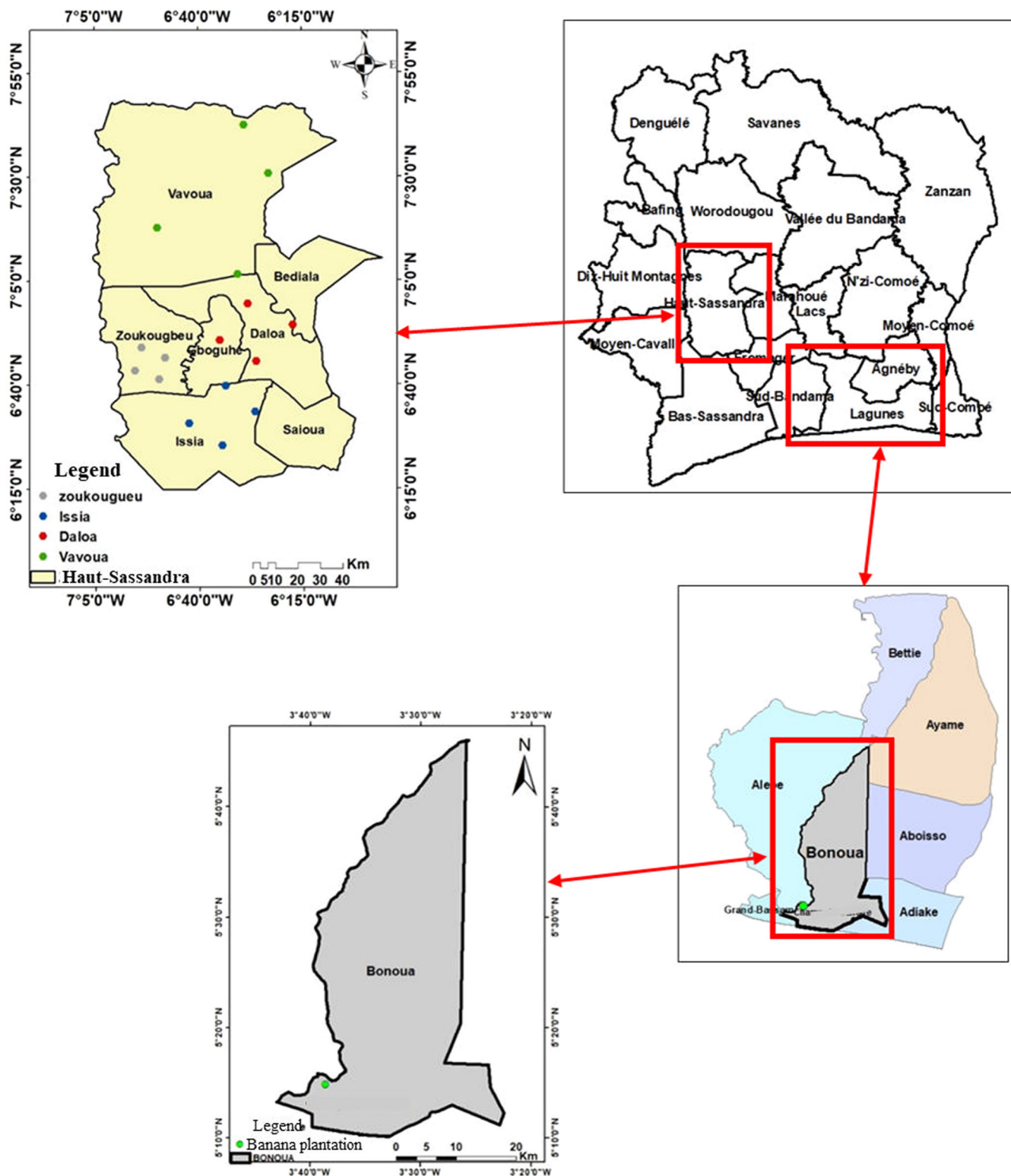
## 2.4 | Searching for Antagonistic Fungi in the Plantain Rhizosphere

### 2.4.1 | Isolation of Rhizospheric Fungi

A quantity of 5 to 10 mg of each pre-dried soil sample was weighed and placed in a Petri dish. Approximately 20 mL of Sabouraud chloramphenicol medium, prepared and maintained in supercooling at 45°C–50°C, was added. The weighed soil was immediately dispersed into the culture medium by gently shaking the Petri dish [20]. Three trials were carried out per soil sample. Incubation took place at 30°C for 7 days, after which the morphologically different colonies observed on the Petri dishes were picked and grown individually under the same conditions.

### 2.4.2 | Characterization and Selection of Antagonistic Fungi

Fungal isolates were characterized on the basis of morphological observations and molecular analysis. Macroscopic characteristics, that is staining, shape and appearance of the mycelium on Sabouraud Chloramphenicol agar, were observed. In addition, microscopic identification based on hyphal partitioning mode, conidial shape and the presence of phialides and clamydospores was carried out on 7-day-old colonies using the



**FIGURE 1** | Mapping of study area and sampling sites.

scotch method at 40x magnification [17]. On the basis of phenotypic identification, only morphotypes of fungi recognized as biocontrol agents were selected. Twelve (12) selected isolates of different morphotypes were identified by molecular study. DNA extraction was performed using the CTAB method. The DNA obtained was amplified by PCR using ITS1 (5'TCCGTAGGTGAACCTGCGG3') and ITS4 (5'TCCTCCGCT

TATTGATATGC3') primers [18, 21, 22]. Amplicons were sequenced on the ABI3730XL 96 capillary sequencer (Thermo Fisher Scientific). FASTA files were analyzed, and good-quality sequence fragments were used to perform a nucleotide BLAST, BLAST from GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). After identification, one isolate of each antagonistic fungus species (*Trichoderma ghanense*, *Trichoderma longibrachiatum*,

*Trichoderma reesei*, *Neurospora dictyophora* and *Hamigera ter-ricola*) was selected for antagonism testing. A total of five isolates from different species of antagonistic fungi were selected.

## 2.5 | Direct Contact Trials Between Biocontrol Agents and Pathogens

Direct contact confrontations on PDA medium were carried out according to the method described by [23], with a few modifications. Unlike the reference method, where antagonists are cultured simultaneously with the pathogen, in this work the pathogen (*M. fijiensis*) was cultured before the biocontrol strains, due to the slow growth of *M. fijiensis*. It was only after *M. fijiensis* showed visible growth (15 days later) that the biocontrol strains were put into culture in confrontation with this pathogen. Petri dishes were incubated at 30°C for 45 days. The control consists of Petri dishes inoculated with the pathogen only. From the first to the thirtieth day of confrontation, the radial growth of the pathogenic strain was measured at 5-day intervals. Three (03) replicates were performed for each pathogen-antagonist pair. The percentage inhibition of mycelial growth was calculated according to the formula in [24] below:

$$I(\%) = (C_0 - C_n / C_0) \times 100$$

where:

- I (%) is the percentage of mycelial growth inhibition;
- C<sub>n</sub> is the average diameter of colonies in the presence of antagonism;
- C<sub>0</sub> is the diameter of control colonies.

## 2.6 | Research of Active Compounds against *M. fijiensis*

### 2.6.1 | Production of Secondary Metabolites of Antagonistic Fungi

A spore suspension was made from a 7-day-old fungus culture with sterile distilled water. A 2 mL volume of this suspension was sprayed onto sterile rice media contained in 1000 mL Erlenmeyer flasks. The Erlenmeyer flasks were then incubated in an oven at 30°C. After 3 weeks' incubation, the secondary metabolites produced by the fungi on the rice media were extracted by maceration in a mixture of 250 mL ethyl acetate and 250 mL cyclohexane. The cultures were macerated for 24 h at room temperature, with stirring. After maceration, the resulting solution was filtered through absorbent cotton and then 2 times through Whatman paper, and the filtrate recovered. The crude extract was then obtained by evaporating the solvents in a rotary evaporator at 45°C and 160 rpm.

### 2.6.2 | Evaluation of the Biological Activity of Crude Extracts of Antagonistic Fungi

For each crude extract, a concentration range from 2.5 to 10 mg/mL was achieved by the 50% dilution method with 100%

DMSO. Then, 100 µL of each concentration was spread on PDA medium contained in sterile Petri dishes. Media supplemented with crude extract were inoculated with a 14-day-old mycelial explant of *M. fijiensis*. Controls were Petri dishes supplemented with 100% DMSO only. Petri dishes were incubated in an oven at 30°C. After 14 days of incubation, the radial growth of the pathogenic strain in each extract was measured. Two (02) replicates were performed for each crude extract and each concentration. The percentage inhibition of pathogen growth was expressed according to the formula described by [24].

When, for a given concentration, no mycelial growth was observed, a new inoculation was carried out on a new petri dish from the point of transplanting of the dish where no growth was observed. A resumption of growth indicates a fungistatic effect, and the absence of growth a fungicidal effect. Three antifungal parameters were investigated:

- CI50 (concentration that induces 50% inhibition), a linear interpolation was performed between two available concentrations (C<sub>1</sub> and C<sub>2</sub>) and their corresponding inhibition percentages (I<sub>1</sub> and I<sub>2</sub>) as indicated on the following formula: [25]

$$CI50 = C_1 + \left( \frac{50 - I_1}{I_2 - I_1} \right) \times (C_2 - C_1)$$

- MIC (minimum inhibitory concentration): this is the lowest concentration of extract for which no growth is visible to the naked eye;
- MFC (minimum fungicidal concentration): the lowest extract concentration for which a fungicidal effect is observed.

## 2.7 | Data Analysis

The data collected were analyzed using R 4.4.1 software. An analysis of variance was performed using a generalized linear model to compare the percentage inhibition of *M. fijiensis* mycelial growth by the antagonists. This analysis was also used to compare the effect of the different antagonist extracts at each concentration on *M. fijiensis* growth.

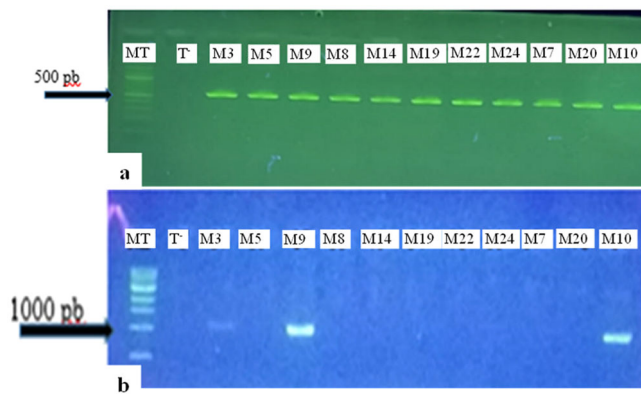
## 3 | Results

### 3.1 | Phenotypic and Molecular Characterization of *M. fijiensis*

Table 1 shows the characteristics of fungi isolated from banana leaf surfaces. A total of 24 fungi of different morphotypes were isolated (Table 1). Of these, 11 isolates (M3, M5, M7, M8, M9, M10, M14, M19, M20, M22 and M24) with phenotypic characteristics similar to *M. fijiensis* were subjected to molecular studies. After amplification with the universal primers ITS1 and ITS4, all strains were confirmed as fungi by amplicon size of around 600 bp (Figure 2a). In contrast, amplification of the 5.8 S gene with the specific

**TABLE 1** | Characteristics of fungi isolated from banana leaf surfaces.

| Strains | Growth rate (mm/day) | Aspect         | Color          | Number of conidial septa |
|---------|----------------------|----------------|----------------|--------------------------|
| M1      | 1.10 ± 0.14          | Dish           | Whitish        | 0                        |
| M2      | 1.55 ± 0.07          | Dish           | Greenish       | 0                        |
| M3      | 0.90 ± 0.14          | Dish           | Olive-brown    | 0                        |
| M4      | 1.05 ± 0.21          | Dish           | Greenish       | 0                        |
| M5      | 0.75 ± 0.07          | Dish           | Grayish        | 0                        |
| M6      | 1.60 ± 0.14          | Dish           | Yellowish      | 0                        |
| M7      | 0.50 ± 0.08          | Dish           | Pinkish-white  | 1                        |
| M8      | 0.92 ± 0.03          | Dish           | Yellowish      | 0                        |
| M9      | 0.70 ± 0.07          | Slightly domed | Olive-brown    | 3                        |
| M10     | 0.50 ± 0.04          | Slightly domed | Greenish-white | 2–3                      |
| M11     | 1.72 ± 0.03          | Dish           | Greenish       | 0                        |
| M12     | 1.40 ± 0.14          | Dish           | Grayish        | 0                        |
| M13     | 1.20 ± 0.14          | Dish           | Whitish        | 0                        |
| M14     | 0.92 ± 0.03          | Dish           | White-olive    | 0                        |
| M15     | 1.37 ± 0.03          | Dish           | Orangeish      | 0                        |
| M16     | 1.60 ± 0.07          | Dish           | Yellowish      | 0                        |
| M17     | 1.45 ± 0.07          | Dish           | Rosy           | 0                        |
| M18     | 1.67 ± 0.03          | Dish           | Orangeish      | 0                        |
| M19     | 0.87 ± 0.01          | Dish           | Yellowish      | 0                        |
| M20     | 0.80 ± 0.07          | Dish           | Whitish        | 0                        |
| M21     | 1.20 ± 0.07          | Dish           | Blackish       | 0                        |
| M22     | 0.87 ± 0.03          | Dish           | Blackish       | 0                        |
| M23     | 1.67 ± 0.03          | Dish           | Yellowish      | 0                        |
| M24     | 0.80 ± 0.04          | Dish           | Blackish       | 0                        |



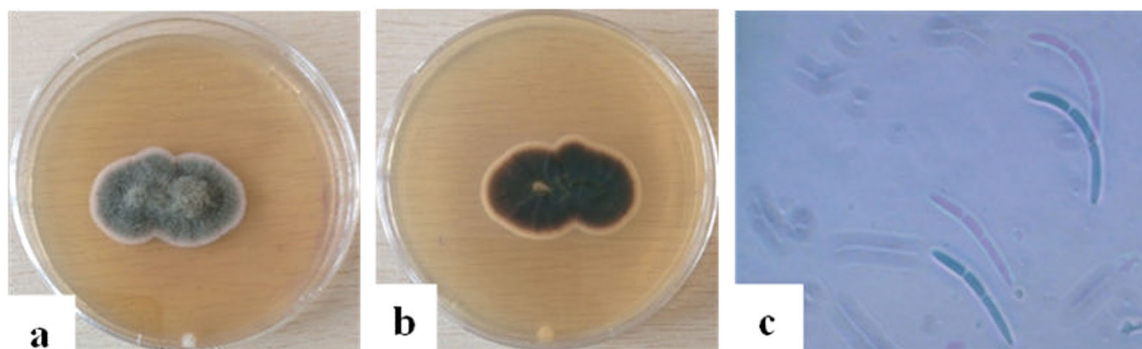
**FIGURE 2** | a: ITS amplification; b: amplification by MF137 and R635.

primer pair MF137 and R635 revealed an amplicon of around 966 bp only for strains M9 and M10. The other strains gave no amplified product for this gene (Figure 2b). Thus, strains M9 and M10 were confirmed as *M. fijiensis*. Isolate M10 was chosen for further work. Phenotypically, this fungus presented a greenish-white colony with slightly domed appearance and conidia presenting 2 or 3 septa (Figure 3) for a growth rate of 0.50 mm/day (Table 1).

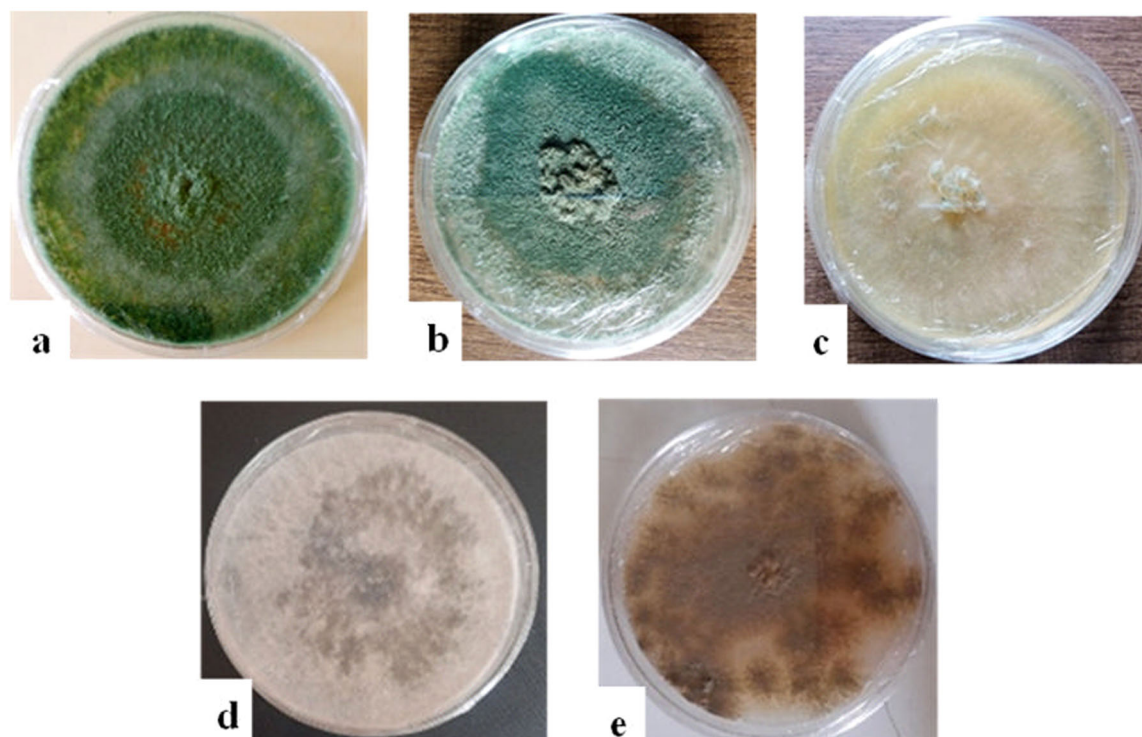
### 3.2 | Diversity of Rhizospheric Fungi

Microbiological analysis was used to characterize soil fungi. Figures 4 and 5 show the phenotypic aspects of these micromycete aged between 5 and 7 days. Twelve different morphotypes of isolated fungi were selected as potential antagonists. These were isolates A12, A7E, A12E, A15, A29, I3, A30, A21, I4, A20, A11E and A6. Based on macroscopic and microscopic characteristics, these isolates were grouped into three (03) genera, namely *Trichoderma* (A12, A7E, A12E, A15, A29, I3, A30, A21, I4), *Neurospora* (A20) and *Hamigera* (A11E, A6). The *Trichoderma* genus showed whitish colonies at the start of growth, becoming totally greenish from day 5 (A12, A7E, A12E, A15, A29, I3, A30) and yellowish colonies (A21, I4). Microscopically, this genus was identified with phialides in whorls attached at right angles to the conidiophores. *Neurospora* (A20) showed a beige colony at the start of growth, turning orange by Day 5. Microscopic examination revealed axon-like filaments intertwining to form a carpet. Finally, the *Hamigera* genus showed yellowish colonies at the start of growth, turning light green by Day 7. Microscopic observation showed curved conidiophores branching into several long branches bearing phialides.

Sequencing results and nucleotide BLAST from GenBank revealed that isolates A7E, A12 and A30 belong to the *T. longibrachiatum* species with a similarity of around 99%. Also,



**FIGURE 3** | Macroscopic and microscopic aspects of strain M10 (*Mycosphaerella fijiensis*). a: M10 (face); b: M10 (reverse); c: M10 (microscopic appearance).



**FIGURE 4** | Macroscopic aspects of rhizospheric fungi. a: *Trichoderma ghanense*; b: *T. longibrachiatum*; c: *T. reesei*; d: *Neurospora dictyophora*; e: *Hamigera terricola*.

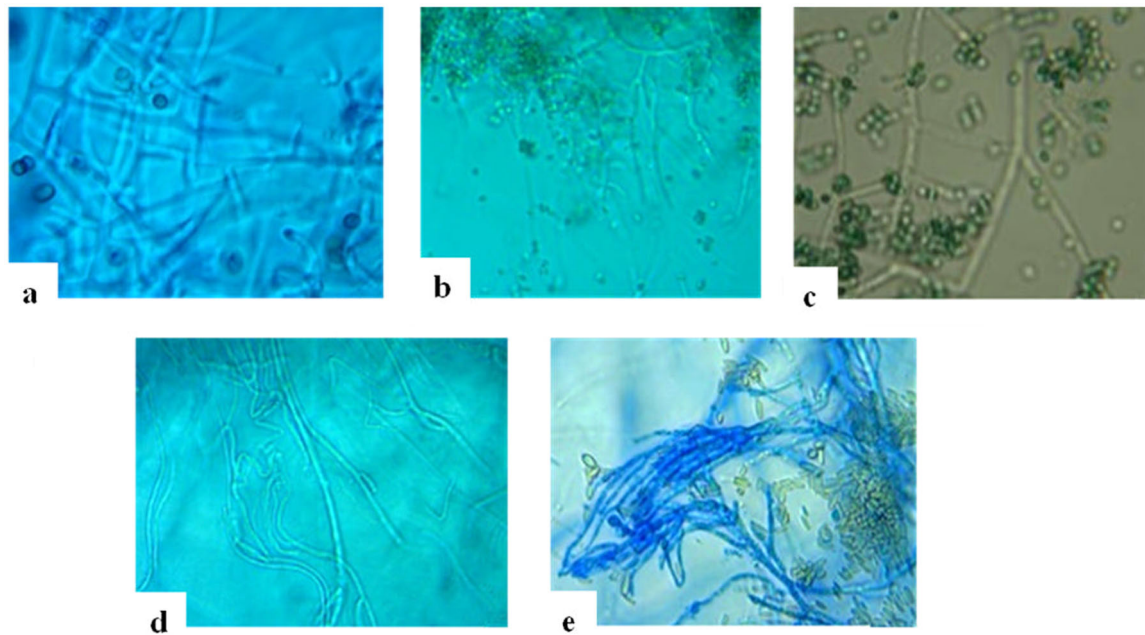
fungi A12E, A15, A29 and I3 belong to the species *T. ghanense* with a similarity of over 99%. In addition, isolates A21 and I4 belong to *T. reesei* with approximately 100% identity. Isolates A6 and A11E showed over 99% similarity to *H. terricola*. Finally, strain A20 belongs to *N. dictyophora*, with 98.53% identity (Table 2). Among these fungi, five (05) strains were selected for antagonism tests, with one strain selected per species.

### 3.3 | Inhibitory Activity of Micromycetes Associated With Banana Rhizosphere on *M. fijiensis*

Direct confrontations of *M. fijiensis* colonies with fungi (*N. dictyophora*, *T. ghanense*, *T. longibrachiatum*, *T. reesei* and *H. terricola*) isolated from soil samples yielded the data shown in Table 3. As regards the confrontation with *N. dictyophora* (A20),

from Day 3 onwards, this fungus covered the entire Petri dish to the detriment of *M. fijiensis*, which then disappeared completely from Day 15 of the confrontation. *T. ghanense* (A12E) and *T. longibrachiatum* (A30) prevented pathogen development. The average diameter of *M. fijiensis* remained constant from Days 1 to 30 of confrontation (diameter = 1.25 cm). Confrontations with *T. reesei* (A21) and *H. terricola* (A11E) did not prevent the growth of *M. fijiensis*. From Days 1 to 10, radial growth of the *M. fijiensis* strain increased from 1.25 to 1.7 cm. From Days 10 to 30, however, there was no further increase in *Mycosphaerella fijiensis* growth. In addition, during these confrontations, the antagonists (*T. ghanense*, *T. longibrachiatum*, *T. reesei* and *H. terricola*) caused a change in the color and shape of *M. fijiensis* (Table 4).

The percentages of inhibition at day 30 of the in vitro confrontations are shown in Figure 5. The confrontations carried



**FIGURE 5** | Microscopic aspects of rhizospheric fungi. a: *Trichoderma ghanense*; b: *T. longibrachiatum*; c: *T. reesei*; d: *Neurospora dictyophora*; e: *Hamigera terricola*.

**TABLE 2** | Alignment statistic of ITS region of rhizospheric fungi.

| Code | Accessions | Species identified                 | Coverage | Expected value | Identity percentage |
|------|------------|------------------------------------|----------|----------------|---------------------|
| A6   | NR137735.1 | <i>Hamigera terricola</i>          | 99%      | 0.0            | 99.44%              |
| A7E  | NR120298.1 | <i>Trichoderma longibrachiatum</i> | 99%      | 0.0            | 98.99%              |
| A12  | NR120298.1 | <i>T. longibrachiatum</i>          | 99%      | 0.0            | 98.83%              |
| A12E | NR120299.1 | <i>Trichoderma ghanense</i>        | 99%      | 0.0            | 99.83%              |
| A15  | NR120299.1 | <i>T. ghanense</i>                 | 99%      | 0.0            | 99.67%              |
| A20  | NR163513.1 | <i>Neurospora dictyophora</i>      | 99%      | 0.0            | 98.53%              |
| A21  | NR120297.1 | <i>Trichoderma reesei</i>          | 97%      | 0.0            | 100.00%             |
| A29  | NR120299.1 | <i>T. ghanense</i>                 | 99%      | 0.0            | 99.83%              |
| A30  | NR120298.1 | <i>T. longibrachiatum</i>          | 98%      | 0.0            | 99.16%              |
| A11E | NR137735.1 | <i>H. terricola</i>                | 98%      | 0.0            | 99.63%              |
| I3   | NR120299.1 | <i>T. ghanense</i>                 | 98%      | 0.0            | 99.83%              |
| I4   | NR120297.1 | <i>T. reesei</i>                   | 99%      | 0.0            | 99.83%              |

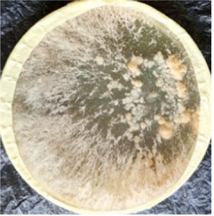
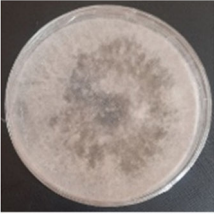
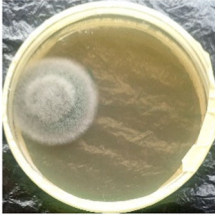
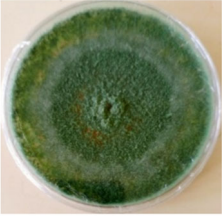
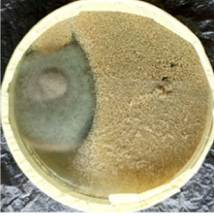
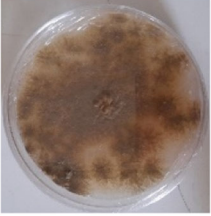
**TABLE 3** | Inhibition diameter of *Mycosphaerella fijiensis* at different days (in cm).

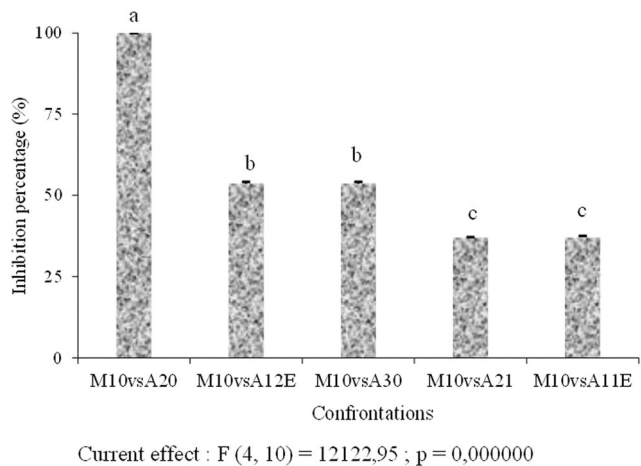
| Confrontation      | Day 1 | Day 5 | Day 10 | Day 15 | Day 20 | Day 25 | Day 30 |
|--------------------|-------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|
| M10 (control test) | 1.25  | 1.5   | 1.8    | 2.1    | 2.3    | 2.5    | 2.7    |
| M10 vs A20         | 1.25  | 1.25  | 0.9    | 0      | 0      | 0      | 0      |
| M10 vs A12E        | 1.25  | 1.25  | 1.25   | 1.25   | 1.25   | 1.25   | 1.25   |
| M10 vs A30         | 1.25  | 1.25  | 1.25   | 1.25   | 1.25   | 1.25   | 1.25   |
| M10 vs A21         | 1.25  | 1.4   | 1.7    | 1.7    | 1.7    | 1.7    | 1.7    |
| M10 vs A11E        | 1.25  | 1.5   | 1.7    | 1.7    | 1.7    | 1.7    | 1.7    |

out generally showed a significant reduction ( $p < 0.05$ ) of 37% to 100% in the radial growth of *M. fijiensis* compared with the control (Figure 6). Homogeneity tests enabled us to define different homogeneous groups based on the antagonistic fungi tested. The

1st group, containing *T. reesei* (A21) and *H. terricola* (A11E), showed the lowest inhibition percentage at 37%. The 2nd group corresponding to *T. ghanense* (A12E) and *T. longibrachiatum* (A30) showed an inhibition percentage of 53.57%. Finally, the 3rd group

**TABLE 4** | Photograph of direct confrontation between *Mycosphaerella fijiensis* and rhizospheric fungi.

| Confrontation                                                                       |          | Controls                                                                            |                                                                                     |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| 30th day                                                                            |          | (+)                                                                                 | (-)                                                                                 |
|    | M10 A20  |    |  |
|    | M10 A30  |    |                                                                                     |
|    | M10 A12E |    |                                                                                     |
|   | M10 A21  |   |                                                                                     |
|  | M10 A11E |  |                                                                                     |



**FIGURE 6** | Percentage inhibition of *Mycosphaerella fijiensis* mycelial growth on day 30 of confrontation.

formed by *N. dictyophora* (A20) recorded the highest percentage of inhibition of *M. fijiensis* growth, that is 100%.

**3.4 | Quantity of Crude Extracts**

The mass of extracts obtained by extraction with ethyl acetate and cyclohexane varied from one extract to another (Table 5). Extract A30 (*T. longibrachiatum*) had the highest mass (65 mg), while A21 (*T. reesei*) had the lowest (39 mg). The other extracts, A20 (*N. dictyophora*), A12E (*T. ghanense*) and A11E (*H. terricola*), were in an intermediate range, with masses of 50, 45 and 43 mg, respectively.

**3.5 | Antifungal Activity of Fungal Extracts**

Analysis of variance indicated that the percentage inhibition of *M. fijiensis* mycelial growth varied significantly according to

extract ( $p < 0.05$ ), concentration ( $p < 0.05$ ) and their interaction ( $p < 0.05$ ) (Table 6).

Figure 7 shows the efficacy of the fungal extracts against *M. fijiensis*. All extracts produced total (100%) growth inhibition from 2.5 mg/mL upwards. At 1.25 mg/mL, extract A21 (*T. reesei*) showed the best inhibition at 58.59%, while extract A12E (*T. ghanense*) showed the lowest inhibition at 26.11%. The curves show a rapid inhibition response with increasing concentration. Table 7 shows the antifungal parameters of these extracts. Among them, the extract of the fungus A21 (*T. reesei*) stood out for its lowest 50% inhibitory concentration (IC50) of 0.99 mg/mL, and a minimum fungicidal concentration (MFC) of 5 mg/mL. Extracts of A20 (*N. dictyophora*), A11E (*H. terricola*) and A30 (*T. longibrachiatum*) also performed well, with IC50s of 1.08 mg/mL, 1.16 mg/mL and 1.50 mg/mL respectively, and a minimum fungicidal concentration (MFC) of 5 mg/mL. In contrast, extracts of A12E (*T. ghanense*) showed the highest IC50 of 1.65 mg/mL with a higher minimum fungicidal concentration (MFC) of 10 mg/mL.

#### 4 | Discussion

The excessive use of chemical fungicides in plantain cultivation can lead to environmental pollution and promote the emergence of pathogens resistant to these treatments. In addition, these chemicals are responsible for various health problems in humans and animals [26]. The reduction or elimination of synthetic pesticides in agriculture is therefore strongly recommended. Among the most promising alternatives is the use of rhizospheric micro-organisms as biological control agents. As these microorganisms are isolated from the rhizosphere, they do not disturb the ecological balance when reintroduced into this environment in the form of biocontrol products [27]. In this study, we are particularly interested in the efficacy of certain rhizosphere fungi isolated from Haut-Sassandra banana plantations in the biological control of *M. fijiensis*. To this end, five antagonistic fungi belonging to the genera *Trichoderma*, *Neurospora* and *Hamigera* were tested on *M. fijiensis*. Numerous studies have highlighted the efficacy of these fungi in the biocontrol of fungal pathogens [28–30].

TABLE 5 | Mass of fungal extracts.

| Raw extracts | A20 | A30 | A21 | A12E | A11E |
|--------------|-----|-----|-----|------|------|
| Mass (mg)    | 50  | 65  | 39  | 45   | 43   |

TABLE 6 | Analysis of variance of percentage inhibition of *Mycosphaerella fijiensis* mycelial growth as a function of extract, concentration and their interaction.

| Source of variance    | Degrees of freedom (df) | Deviance (D) | Residual degrees of freedom (df-res) | Residual deviance (D-res) | Pr(> Chi)                  |
|-----------------------|-------------------------|--------------|--------------------------------------|---------------------------|----------------------------|
| NULL                  | —                       | —            | 39                                   | 4.7319                    | —                          |
| Extract               | 4                       | 0.0529       | 35                                   | 4.6790                    | $< 2.2 \times 10^{-16}***$ |
| Concentration         | 3                       | 3.9889       | 32                                   | 0.6901                    | $< 2.2 \times 10^{-16}***$ |
| Extract:Concentration | 12                      | 0.6794       | 20                                   | 0.0106                    | $< 2.2 \times 10^{-16}***$ |

\*\*\* $p < 0.001$ .

In vitro tests carried out with antagonists revealed a significant reduction in the radial growth of *M. fijiensis* compared with the control. In particular, *N. dictyophora* caused total inhibition (100%) of *M. fijiensis* growth. These results differ from those obtained by [31] in his study on the antifungal activity of endophytic lemon fungi. This author observed a 45% inhibition of *Aspergillus niger* growth by *Neurospora* sp. Two types of mechanism of action were observed in the antagonism of *N. dictyophora* towards *M. fijiensis*: competition and mycoparasitism. This fungus rapidly colonized the Petri dish, then developed on the pathogenic strain, destroying it completely from the 15th day of confrontation. According to [32],

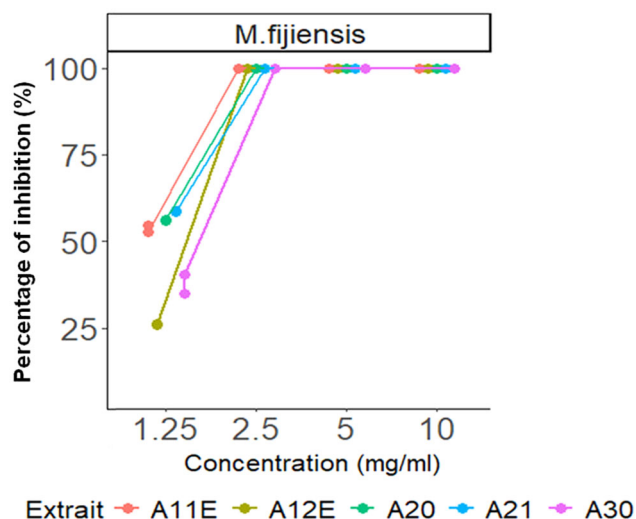


FIGURE 7 | Percentage inhibition of *Mycosphaerella fijiensis* growth as a function of fungal extract concentration.

TABLE 7 | Effect of fungal extracts on radial growth of *Mycosphaerella fijiensis* and measured MIC, MFC and IC50 values.

| Fungal extracts | Antifungal parameters |             |             |
|-----------------|-----------------------|-------------|-------------|
|                 | IC50 (mg/mL)          | MIC (mg/mL) | MFC (mg/mL) |
| A12E            | 1.65                  | 2.5         | 10          |
| A21             | 0.99                  | 2.5         | 5           |
| A30             | 1.50                  | 2.5         | 5           |
| A20             | 1.08                  | 2.5         | 5           |
| A11E            | 1.16                  | 2.5         | 5           |

Note: A12E, *Trichoderma ghanense*; A20, *Neurospora dictyophora*; A21, *Trichoderma reesei*; A30, *Trichoderma longibrachiatum*; 11E, *Hamigera terricola*.

mycoparasitism is a mode of action requiring rapidity of action, high specificity and direct contact between the antagonistic agent and the phytopathogenic fungus. According to [33], this is a relationship in which the antagonist develops at the expense of its host, which it uses as a nutritive resource. Various enzymes such as chitinase and  $\beta$ -1,3-glucanase are generally involved in the interaction, lysing the fungal wall of the pathogen [34, 35]. The fungi *T. ghanense* and *T. longibrachiatum* induced a 53.57% inhibition of *M. fijiensis* growth. Similar results were reported by [36], in his study of the antagonistic effect of *Trichoderma* spp. against the pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Direct confrontations carried out by this author showed growth inhibitions of 59.1% and 62.4%, respectively, by *T. ghanense* and *T. longibrachiatum*. However, *T. reesei* and *H. terricola* showed lower inhibition of *M. fijiensis* (37%), in contrast to the more promising results obtained by [37], who used endophytic fungi to control *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, the causal agent of cotton ramulose (*Gossypium hirsutum*). Their study revealed an inhibition of more than 70% of the growth of *C. gossypii* var. *cephalosporioides* by a strain of *Hamigera insecticola*. Furthermore, work by [38] showed that *T. reesei* exhibited superior antagonistic activity, with over 85.5% inhibition of *Phytophthora capsici* mycelial growth in double culture. The antagonism of *T. ghanense*, *T. longibrachiatum*, *T. reesei* and *H. terricola* towards *M. fijiensis* was manifested through competition and antibiosis. Antagonism began with distortion and color change of the pathogen's mycelium, followed by total occupation of the Petri dish. According to [39], the distortion and color change of the mycelium of one fungus in the presence of another results from antibiosis. Indeed, according to these authors, during direct confrontation in vitro, the antagonistic agent inhibits the development of the pathogen through the synthesis of antimicrobial compounds such as hydrolytic enzymes (chitinases, cellulases,  $\beta$ -1,3-glucanases), antibiotics, phenols, alkaloids, volatile compounds and other toxic metabolites. These compounds are generally responsible for distorting the mycelium, altering the appearance and pigmentation of the pathogen [40]. The rapid occupation of the entire Petri dish by antagonists can be explained by competition for space and nutrient resources [41, 42].

With regard to fungal extracts, they revealed significant variations in their efficacy against *M. fijiensis*, with marked differences in 50% inhibitory concentrations (IC50) and minimum fungicidal concentrations (MFC). At 2.5 mg/mL, all extracts induced complete inhibition of radial growth, establishing this concentration as the minimum inhibitory concentration (MIC) for each [43]. *T. reesei* extract (A21) was the most effective, with an IC50 of 0.99 mg/mL and a MFC of 5 mg/mL, indicating strong antifungal activity at low concentrations. Indeed, *T. reesei* generally produces antifungal metabolites such as trichodermolides and hydrolytic enzymes that could contribute to this efficacy [26, 44]. Extracts of *N. dictyophora* (A20), *H. terricola* (A11E) and *T. longibrachiatum* (A30) also showed good efficacy, with IC50s of 1.08, 1.16 and 1.50 mg/mL, respectively, and a MFC of 5 mg/mL. The biocontrol activity observed with these extracts is thought to be due to the action of certain antifungal metabolites such as peptides and trichoderma-mides, as indicated by Kurchenko et al. [45] and Park et al. [46]. However, *T. ghanense* extract (A12E) showed a higher IC50 (1.65 mg/mL), indicating lower efficacy at low concentrations. *T.*

*ghanense* also produces antifungal metabolites, but their activity may be less effective in inhibiting *M. fijiensis*, requiring higher concentrations for complete fungicidal inhibition [47, 48].

The present study determined the efficacy of *T. ghanense*, *T. longibrachiatum*, *T. reesei*, *N. dictyophora* and *H. terricola* in the biocontrol of *M. fijiensis*. Antagonism tests between these fungi and *M. fijiensis* showed a reduction in the pathogen's radial growth compared with the control. The fungi used three (03) types of antagonism, namely competition for space and nutrients, antibiosis and mycoparasitism, to inhibit the pathogen's growth. *N. dictyophora*'s antagonism to *M. fijiensis* was better than that of other rhizospheric fungi. In vitro tests with fungal extracts revealed that all antagonistic fungi tested had marked antifungal activity against *M. fijiensis*, with low minimum inhibitory concentrations (MICs) and minimum fungicidal concentrations (MFCs). *T. reesei* extract showed the best antifungal activity, with an IC50 of 0.99 mg/mL.

## Author Contributions

**Ousmane Fofana:** investigation, funding acquisition, writing – original draft, visualization, writing – review and editing; data curation, software, formal analysis. **Rosin Don Rodrigue Voko Bi:** conceptualization, methodology, validation, supervision, project administration, resources. **Kouassi Clément Kouassi:** conceptualization, validation, methodology, supervision, project administration, resources.

## Conflicts of Interest

The authors declare no conflicts of interest.

## Data Availability Statement

The data that support the findings of this study are available on request from the corresponding author. The data are not publicly available due to privacy or ethical restrictions.

## References

1. D. Koné, J. Y. Kouadio, S. Traoré, K. Kobenan, and S. Aké, "Comparative Epidemiology of Black Cercosporiosis and Cladosporiosis in Banana in Côte D'ivoire," *Agronomie Africaine* 18, no. 2 (2006): 175–185.
2. A. Lassoudière, "Banana: A Century of Technical Innovations," *Edition Quae* (2012): 352.
3. F. Kassi, O. Badou, Z. Tonzibo, Z. Salah, L. Amari, and D. Kone, "Action Du Fongicide Naturel Neco Contre La Cercosporiose Noire (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) Chez Le Bananier Plantain (AAB) En Côte D'ivoire," *Journal of Applied Biosciences* 75 (2014): 6192–6201.
4. T. Seydou, A. Georges, C. Brahimia, et al., "Effect of the Association of Different Tolerant Banana Cultivars (*Musa* Spp.) on the Incidence of Black Cercosporiosis in the Susceptible Cultivar 'Orishele' in Côte D'ivoire," *European Scientific Journal* 11 (2015): 240–257.
5. A. Lassoudiere, "The Banana Tree and Its Cultivation," *Edition Quae* (2007): 383.
6. G. E. Harman, D. Custis, and M. Shores, *Plant Genomic and Environmental Factors That Affect the Abilities of Trichoderma Spp. to Induce Plant Resistance and Increased Growth*. 9th International Workshop on Trichoderma and Gliocladium, (2006), 42.
7. D. K. Kra, H. A. Diallo, and Y. J. Kouadio, "Antifungal Activities of Extract of *Chromolaena Odorata* (L.) King & Robins on Two Isolates of *Fusarium oxysporum* (E.F. Sm.) Responsible for Lethal Yellowing of Banana Leaves," *Journal of Applied Biosciences* 24 (2009): 1488–1496.

8. X. Huang, N. Zhang, X. Yong, X. Yang, and Q. Shen, "Biocontrol of Rhizoctonia Solani Damping-Off Disease in Cucumber With Bacillus Pumilus SQR-N43," *Microbiological Research* 167, no. 3 (2012): 135–143.
9. Z. Belkadi and Y. Koliai, "Isolation of Rhizospheric Bacteria With Antagonistic Activity and Tial in Biocontrol of *Botrytis cinerea* on Tomato," in *Thesis in Applied Microbiology*. Université Mouloud Mammeri, (2016), 75.
10. S. Hamlaoui and K. Benamer, "Comparative Study of Some Morphological and Biochemical Parameters in Seven Varieties of Durum Wheat (*Triticum durum* Desf) in the Constantine Region," in *Master's Thesis: Biology and Physiology of Plant Reproduction*. Université des Frères Mentouri Constantine, (2018), 76.
11. R. Balestrini, E. Lumini, R. Borriello, and V. Bianciotto, "Plant-Soil Biota Interactions," in *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry*. Academic Press, (2015), 311–338.
12. O. Benmehidi and Y. Boukaabache, *Nursery of the Main Fungal Diseases of Durum Wheat in the Constantine Region. Mémoire de Master: Biologie et Physiologie Végétale*. Université des Frères Mentouri Constantine, (2018), 87.
13. L. Manoch, T. Dethoup, N. Yilmaz, J. Houbaken, and R. A. Samson, "Two New Talaromyces Species From Soil in Thailand," *Mycoscience* 54 (2013): 335–342.
14. P. Audrey, *Study of The Plantain Banana Sector in Côte D'Ivoire*, Study Report (Committee for International Solidarity, 2015), 62.
15. G. Vincent, "Sampling Methods for Landscape Estimation: How to Measure Storm Damage," *Geographical Space* 36 (2007): 237–250.
16. S. El-Mrabet, F. Msanda, A. El-Mousadik, and L. Ouahmane, "Evaluation of the Mycorrhizal Power of Rhizospheric Soils of *Chamaecytisus abidus* and *Ononis natrix* in the Production of Quality Seedlings of *Argania Spinosa* (L.) Skeels," *American Journal of Innovative Research & Applied Sciences* 4, no. 2 (2017): 44–51.
17. O. Onautshu, A. Légréve, and D. Dheda, "Characterization of *Mycosphaerella fijiensis* Populations and Epidemiology of Black Sigatoka in Banana Plants in the Kisangani Region, DRC," *Study Report* (Catholic University of Louvain, 2013), 26.
18. S. B. Lee, M. G. Milgroom, and J. W. Taylor, "A Rapid, High Yield Miniprep Method for Isolation of Total Genomic DNA From Fungi," *Fungal Genetics Reports* 35 (1988): 23–24.
19. A. Johanson, "Detection of Banana Leaf Spot Pathogens by PCR 1," *EPPO Bulletin* 25, no. 1–2 (1995): 99–107.
20. J. H. Warcup, "The Soil Plate Method for Isolation of Fungi From Soil," *Nature* 166 (1950): 117–118.
21. K. N. Egger, "Molecular Analysis of Ectomycorrhizal Fungal Communities," *Canadian Journal of Botany* 73 (1995): 1415–1422.
22. O. Adam, M. Merad, S. Antoun, et al., "Intérêt De L'amplification Génique À L'aide D'amorces Universelles Dans Le Diagnostic Des Infections Fongiques Chez Le Patient Immunodéprimé," *Pathologie Biologie* 52, no. 9 (2004): 544–549.
23. U. H. Meraj and P. B. Nandkar, "Antagonistic Effect of Rhizospheric *Trichoderma* Isolates Againstst Tomato Damping-Off Pathogen, *Fusarium oxysporum* F.Sp. Lycopersici," *International Journal of Research in Biosciences* 1 (2012): 27–31.
24. A. Hmouni, M. R. Hajlaoui, and A. Mlaiki, "Résistance Debotrytis Cinerea aux Benzimidazoles Et Aux Dicarboximides Dans Les Cultures Abritées De Tomate En Tunisie," *EPPO Bulletin* 26 (1996): 697–705.
25. K. K. A. Clementine and K. Y. Mesmin, "Honora DTBF, Kablan T. In Vitro Antifungal Activity of Live Locale Plants on Colletotrichum Higginsianum, Fusarium oxysporum and Rhizopus stolonifer, Pathogens of Papaya (Carica Papaya L.) and Tomato (Solanum lycopersicum L.)," *European Scientific Journal* 15, no. 9 (2019): 304–321.
26. I. B. K. Sellami Study of the antagonistic effect of *Trichoderma* spp in individual and combined treatments towards *Fusarium oxysporum* f. sp. ciceris (Padwick), agent of vascular Wilt of chickpea. Doctoral dissertation; 2022.
27. A. B. Gherbi and M. E. K. Imane Study of the Antagonistic Effect of Fungal Species Against *Fusarium oxysporum* f. sp Ciceris Pathogenic Agent of Chickpea (*Cicer areitinum* L). Doctoral Dissertation; 2023.
28. C. Jenny, F. Correel, K. Tomekpe, X. Perrier, and D. M. H. Tezenas, "Genetic Diversity of Tropical Plants," in *Study Report-Sciences* (Inc/ Banana, 2002), 217.
29. C. R. Howell, "Cotton Seedling Preemergence Damping-Off Incited Byrhizopus Oryzaeandpythium spp. and Its Biological Control With-trichoderma spp," *Phytopathology* 92 (2002): 177–180.
30. T. Mulaw, I. Druzhinina, C. Kubicek, and L. Atanasova, "Novel Endophytic *Trichoderma* Spp. Isolated From Healthy *Coffea arabica* Roots Are Capable of Controlling Coffee Tracheomycosis," *Diversity* 5 (2013): 750–766.
31. R. S. N. Dagache "Study of the Antifungal Activity of Endophytic Fungi Isolated From Lemon," *Citrus limon*. Doctoral Dissertation, 2021.
32. M. Bettou and M. Righi, "Contribution to the Chemical and Biological Control of the Causal Agent of Septoria Leaf Blotch of Wheat, *Zymoseptoria tritici*, In Vitro," *Master's Thesis* (Microbiology, University of Frères Mentouri Constantine 1, 2018), 66.
33. H. Leghlimi, Z. Meraihi, H. Boukhalfa-Lezzar, E. Copinet, and F. Duchiron, "Production and Characterization of Cellulolytic Activities Produced by *Trichoderma longibrachiatum* (GHL)," *African Journal of Biotechnology* 12, no. 5 (2013): 347–387.
34. F. Berber, O. Amina, B. Alain, and D. Allal, "In Vitro and In Vivo Antagonism of Two *Trichoderma* Towards Four Pathogenic *Bipolaris* Species on Sorghum," *Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux* 148 (2009): 93–114.
35. B. Nasraoui, *Pathogenic Fungi and Pseudo-Fungi of Cultivated Plants: Biology, New Syatematics, Pathological Interaction* (European University Editions, 2015), 199.
36. A. Debbi "Study of the Genetic Diversity of *Fusarium oxysporum* f. sp. Lycopersici, Agent of Tomato Wilt and Investigation of the Antagonistic Effect of *Trichoderma* spp. With Respect to the Pathogen," Doctoral Dissertation, 2019.
37. I. O. Silva, L. A. Bessa, M. N. O. Reis, et al., "Endophytic Fungi Inoculation Reduces Ramulosis Severity in *Gossypium hirsutum* Plants," *Microorganisms* 12, no. 6 (2024): 1124–1127.
38. K. Nawaz, A. A. Shahid, L. Bengyella, et al., "Diversity of Trichoderma Species in Chili Rhizosphere That Promote Vigor and Antagonism Against Virulent *Phytophthora capsici*," *Scientia Horticulturae* 239 (2018): 242–252.
39. J. Köhl, R. Kolnaar, and W. J. Ravensberg, "Mode of Action of Microbial Biological Control Agents Against Plant Diseases: Relevance Beyond Efficacy," *Frontiers in Plant Science* 10 (2019): 845–864.
40. B. O. Afaf "The Use of Fungal Secondary Metabolites in Plant Disease Control". Doctoral Dissertation; 2020.
41. M. K. S. Bentaraa Isolation, Identification and Characterization of *Trichoderma* Species Biological Control Agent and Their Antagonistic Effects Against *Fusarium oxysporum* f. sp ciceris. Doctoral Dissertation; 2015.
42. L. Aouar, A. B. Inas, H. Benadjila, Z. Medjoudj, and A. Mourad, "Streptomyces Griseus Lac1: Biocontrol and Plant Growth-Promoting Properties," *Review of BioResources* 9 (2019): 27–37.
43. B. Désiré Diatta, O. Niass, M. Gueye, E. Houël, and G. Boetsch, "Diversité Et Activité Antimicrobienne Des Plantes Impliquées Dans Le Traitement Des Affections Dermatologiques Chez Les Peul Et Les Wolof Du Ferlo Nord (Sénégal)," *European Scientific Journal ESJ* 18, no. 8 (2022): 73–97.
44. I. A. Boubaa, A. A. Boudra, M. A. Bouit, and S. E. Akroum "Design of a Fertilizer Based on *Trichoderma* molds of agronomic interest" PhD thesis, 2023.

45. I. Kurchenko, V. Patyka, A. Kalinichenko, and Y. Kopylov, "The Genus *Trichoderma* as a Biological Control Agent Against Plant Pathogens," in *Chemical Dialogue Between Plants and Beneficial Microorganisms*. Academic Press, 2023), 153–165.
46. G. Park, S. Pan, and K. A. Borkovich, "Mitogen-Activated Protein Kinase Cascade Required for Regulation of Development and Secondary Metabolism in *Neurospora Crassa*," *Eukaryotic Cell* 7, no. 12 (2008): 2113–2122.
47. M. H. S. Ramada, F. A. C. Lopes, and C. J. Ulhoa, 2019. "Trichoderma Secondary Metabolites," in *Trichoderma: Uses in Agriculture*, eds. M. C. Meyer, S. M. Mazaro, and J. C. Da Silva (Embrapa, 2019), 201–2018.
48. T. Chalearmsrimuang, S. I. Ismail, N. Mazlan, S. Suasard, and T. Dethoup, "Marine-Derived Fungi: A Promising Source of Halo Tolerant Biological Control Agents Against Plant Pathogenic Fungi," *Journal of Pure and Applied Microbiology* 13, no. 1 (2019): 209–223.

---

## Résumé

La communauté fongique associée à la rhizosphère du bananier joue un rôle important pour son adaptation écologique et sa capacité de production. Cette étude a été réalisée pour garantir une agriculture durable du bananier par l'exploitation du potentiel des germes fongiques des ressources écosystémiques du Haut-Sassandra (Centre-Ouest, Côte d'Ivoire). Pour cela, le profil des producteurs et les modèles culturels du plantain ont été déterminés à travers une enquête et l'observation au champ. L'analyse des caractéristiques physico-chimiques des sols des bananeraies a été réalisée. La diversité des communautés fongiques dans la rhizosphère du plantain et leur répartition ont été établies par des analyses microbiologiques et moléculaires. Une activité de biocontrôle a été mise en évidence grâce à une confrontation directe entre souches antagonistes et pathogènes d'une part et l'activité des extraits des antagonistes sur les pathogènes d'autre part. L'étude a révélé que la production du plantain dans le Haut-Sassandra est dominée par des hommes (Ivoiriens) avec un faible niveau scolaire. Des pratiques agroécologiques observées par les planteurs favoriseraient la durabilité et la production des bananeraies face aux défis du changement climatique. Les sols des bananeraies ont révélé plusieurs genres fongiques, tels que *Hamigera*, *Trichoderma*, *Neurospora*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Rhizomucor*, *Rhizopus*, *Absidia*, *Alternaria*, *Acremonium*, *Scytalidium*, *Scedosporium* et *Bipolaris*. Les systèmes de culture diversifiés ont montré une plus grande diversité fongique que les monocultures. Certains champignons, agents de biocontrôle de la rhizosphère, appartenant aux genres *Trichoderma*, *Hamigera* et *Neurospora* ont inhibé la croissance *in vitro* des pathogènes comme *Mycosphaerella fijiensis*, *Aspergillus fumigatus*, *A. spinosus* et *Fusarium falciforme*. Les métabolites de ces champignons antagonistes ont également inhibé totalement la croissance *in vitro* des pathogènes à faibles concentrations. Cette étude offre donc une alternative écologique aux traitements chimiques des pathologies du bananier plantain.

**Mots clés :** bananier, champignons antagonistes, pathogènes, biocontrôle, agriculture durable

## Abstract

The fungal community associated with the banana rhizosphere plays an important role in its ecological adaptation and production capacity. This study was carried out to ensure sustainable banana farming by exploiting the fungal germ potential of the ecosystem resources of Haut-Sassandra (Central-Western, Côte d'Ivoire). To this end, the profile of growers and plantain cropping patterns was determined through a survey and field observation. The physico-chemical characteristics of banana plantation soils were analyzed. The diversity of fungal communities in the rhizosphere of plantain and their distribution were established by microbiological and molecular analyses. Biocontrol activity was demonstrated by direct comparison between antagonist and pathogen strains, and the activity of antagonist extracts on pathogens. The study revealed that plantain production in Haut-Sassandra is dominated by men (Ivorians) with a low level of education. Agroecological practices observed by growers would promote the sustainability and production of banana plantations in the face of the challenges of climate change. Soils in banana plantations revealed several fungal genera, such as *Hamigera*, *Trichoderma*, *Neurospora*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Rhizomucor*, *Rhizopus*, *Absidia*, *Alternaria*, *Acremonium*, *Scytalidium*, *Scedosporium* and *Bipolaris*. Diversified cropping systems showed greater fungal diversity than monocultures. Certain rhizosphere biocontrol fungi belonging to the genera *Trichoderma*, *Hamigera* and *Neurospora* inhibited the *in vitro* growth of pathogens such as *Mycosphaerella fijiensis*, *Aspergillus fumigatus*, *A. spinosus* and *Fusarium falciforme*. The metabolites of these antagonistic fungi also completely inhibited the *in vitro* growth of pathogens at low concentrations. This study therefore offers an ecological alternative to chemical treatments of plantain pathologies.

**Keywords:** banana, antagonistic fungi, pathogens, biocontrol, sustainable agriculture